

Pharmazeutische Zubereitungen, Verwendung dieser Zubereitung und Verfahren zur Erhöhung der Bioverfügbarkeit von peroral zu applizierenden Arzneistoffen

5 Die Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zubereitung, die mindestens einen Emulgator, mindestens einen Hilfsemulgator und/oder Solvent und mindestens ein Lipid enthält, sowie der Verwendung der erfindungsgemäßen Zubereitung als perorales Arzneimittel und ein Verfahren zur Erhöhung der Bioverfügbarkeit von peroral zu applizierenden Arzneistoffen.

10

Folgende technischen Begriffe werden im Sinne dieser Erfindung gemäß nachfolgender Definition verwendet.

Im Sinne dieser Erfindung wird der Begriff Arzneistoff synonym zu Wirkstoff
15 und/oder Pharmakon verwendet und beinhaltet Stoffe, die eine pharmakologische Hauptwirkung aufweisen, sowie solche, die keine pharmakologische Hauptwirkung aufweisen.

Im Sinne der Erfindung wird der Begriff Arzneimittel synonym zu Medikament
20 verwendet und bedeutet, dass eine pharmazeutische Zubereitung, die mindestens einen Arzneistoff enthält, der zu therapeutischen, prophylaktischen und/oder diagnostischen Zwecken verwendet wird.

Im Sinne dieser Erfindung bedeutet Arzneiform die zu applizierende Form, d.h.
25 die Darreichungsform des Arzneimittels, wobei hierunter auch solche Darreichungsformen fallen, die vor Anwendung noch in die eigentliche Darreichungsform überführt werden müssen.

Im Sinne dieser Erfindung wird pharmazeutische Zubereitung synonym zu
30 Grundmischung, Präkonzentrat, Formulierung oder Wirkstoffträgersystem verwendet und enthält pharmazeutische Hilfsstoffe, welche die Arzneistoffwirkung steuern bzw. unterstützen können, sowie möglicherweise weitere Grundstoffe,

-2-

die für eine Herstellung von Arzneiformen, d.h. Darreichungsformen von Zubereitungen von Arzneistoffen, benötigt werden.

Im Sinne dieser Erfindung sind Emulgatoren, Hilfsemulgatoren, Solvent und Lipide pharmazeutische Hilfsstoffe, wobei Emulgatoren und Hilfsemulgatoren zur Gruppe der Tenside gehören, d.h. sie besitzen einen hydrophilen und einen lipophilen Anteil im Molekül. Im Sinne der Erfindung sind Emulgatoren in ihrer Gesamtheit hydrophil, d.h. sie weisen einen HLB (Hydrophile - Lipophile Balance) Wert von > 10 ; optimaler Weise > 12 auf. Hilfsemulgatoren, die im Sinne der Erfindung zur Anwendung kommen sind in ihrer Gesamtheit lipophil, d.h. sie weisen einen HLB Wert von < 10 ; optimaler Weise < 8 auf. Im Sinne der Anmeldung haben Solvents die Aufgabe die Löslichkeit und die Selbstemulgierbarkeit der vorhandenen Phasen einer erfindungsgemäßen Formulierung zu verbessern. Es kommen insbesondere organische Lösungsmittel, mit Vorteil Alkohole, Polyethylenoxidglykole (PEG) und modifizierte PEG, z.B. veretherte PEG (Transcutol®P) in Betracht.

Im Sinne der Anmeldung gibt Smix (surfactant mixture) das Massenverhältnis von Emulgator zu Hilfsemulgator wieder.

Im Sinne dieser Erfindung bedeuten in den Angaben $(v/v+m)$, (m/v) oder (m/m) m = Masse und v = Volumen.

Im Sinne dieser Erfindung bedeutet Substrat mindestens eines intestinalen Enzyms und/oder eines intestinales Effluxsystems, dass Stoffe, insbesondere Arzneistoffe im Intestinum mit dem jeweiligen Enzym oder Effluxsystemen so interagieren, dass sie metabolisiert und/oder aktiv aus dem Darmepithel in das Darmlumen ausgeschleust werden.

Im Sinne dieser Anmeldung stehen die Begriffe intestinales Enzyms und/oder intestinales Effluxsystems für Enzyme/Effluxsysteme, die unter anderem in intestinalem Gewebe vorkommen und dort die Absorption von pharmazeutischen

Wirkstoffen zumindest teilweise verhindern und damit eine Bioverfügbarkeit nach peroraler Gabe vermindern können.

5 Im Sinne dieser Erfindung bedeutet inhibieren, dass in Anwesenheit der erfindungsgemäßen Zubereitung oder der Hilfsstoffe, die für die erfindungsgemäße Zubereitung verwendet werden, Substrate von intestinalen Enzymen oder intestinalen Effluxsystemen durch diese in geringerem Maße metabolisiert werden und/oder aktiv durch Effluxsysteme aus Zellen ausgeschleust werden.

10 Im Sinne dieser Erfindung ist Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen als der Gesamtarzneistoffanteil definiert, der systemisch in Bezug zur Zeit zur Verfügung steht.

Die potentielle Nützlichkeit von Arzneistoffen hängt unter anderem von der Bioverfügbarkeit ab, so dass in der pharmazeutischen Entwicklung ein besonderes
15 Interesse daran besteht, die Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen zu optimieren. Die im Sinne dieser Erfindung bezeichnete Bioverfügbarkeit ist die Geschwindigkeit und/oder das Ausmaß in denen der therapeutisch, prophylaktisch oder diagnostisch wirksame Anteil eines Arzneimittels aus einer Arzneiform freigesetzt und resorbiert wird bzw. am Wirkort verfügbar wird. Die Bioverfügbarkeit
20 wird gemessen über die Konzentration des jeweiligen Arzneistoffes oder seines Metaboliten in Körperflüssigkeiten, wie z.B. Blut, in der Abhängigkeit zur Zeit.

Die Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen, die insbesondere über den Gastrointestinaltrakt resorbiert werden, hängt von der Löslichkeit und damit der Resorbierbarkeit der Arzneistoffe ab. So wird im Stand der Technik die Löslichkeit von
25 insbesondere stark lipophilen und/oder schlecht wasserlöslichen Arzneistoffen, die demzufolge eine langsame und unvollständige Arzneistofffreisetzung und/oder Resorption aufweisen, z.B. durch lipidbasierte Formulierungen erhöht, die eine Bildung von gelösten Phasen und somit eine Erhöhung der Bioverfügbarkeit dieser Arzneistoffe fördern.
30

In US 5,391,377 A wird eine biphasische pharmazeutische Zusammensetzung offenbart, die aus einer langanhaltenden Freigabekomponente, im wesentlichen

C₁₂-C₂₄-Fettsäuren und einer pharmazeutisch wirksamer Substanz, vorzugsweise lipophile Arzneistoffe, sowie aus einer nicht-anganhaltenden Freigabekomponente, einer C₁₂-C₂₄-Fettsäure, besteht.

- 5 In WO 94/09788 A1 wird eine pharmazeutische Zubereitung offenbart, welche die Löslichkeit von HIV-Protease-Inhibitoren durch organische Lösungsmittel, insbesondere Alkohole, und gegebenenfalls zusätzlich durch eine Säure verbessert.
- 10 In US 5,342,625 A wird ein Cyclosporin-enthaltendes Mikroemulsionsvorkonzentrat und Mikroemulsion offenbart, die eine Öl-in-Wasser-Emulsion (O/W-Emulsion) darstellt und zu einer höheren Bioverfügbarkeit mit geringeren inter- und intraindividuelle Streubreite der Resorptionsspiegel führen soll.
- 15 In EP 670715 B1 wurde als Lösung des Problems eine wasserfreie pharmazeutische Zubereitung, bestehend aus einem Tensid, einem Co-Tensid und einer lipophilen Phase offenbart. Diese Zubereitungen weisen in einem pseudoternären Phasendiagramm (Emulgator, Lipid, Wasser) bei anteiliger Zugabe von Wasser transparente, monophasische Bereiche auf. Nachteilig hierbei ist, dass
- 20 der transparente, monophasische, wasserverdünnbare Bereich auf einen Wasseranteil von höchstens 70% begrenzt ist, so dass darüber hinaus, beim sogenannten Austrittsprozentsatz, Trübungen des Systems, insbesondere Ausfällungen bzw. Auskristallisieren von wasserunlöslichem Arzneistoff und damit verschlechterte Resorptionsbedingungen der Arzneistoffe herrschen.
- 25 In Lienau et al., Proc. EUFAPS World Conference on Drug Absorption and Drug Delivery, Copenhagen, 18-20 Juni 2001, S. 106 und Lienau et al., Proc. 4th World Meeting ADRITELF / APGI / APV, Florence, 8/11 April 2002, p. 1463f werden pharmazeutischen Zubereitungen beschrieben, die einen Emulgator, Hilfsemulgator und ein Lipid aufweisen und gegenüber den Zubereitungen gemäß EP 670715 B1 den Vorteil haben, dass sie bei schrittweiser Wasserverdünnung in einem pseudoternären Phasendiagramm einen transparenten, monophasischen Bereich über 70% (m/m) Wasseranteil aufweisen.
- 30

Ein Nachteil der vorbeschriebenen Dokumente besteht darin, dass diese Zubereitungen nur eine Erhöhung der Bioverfügbarkeit von stark lipophilen und/oder wasserunlöslichen Arzneistoffen über die Erhöhung der Löslichkeit lehren, jedoch eine zusätzliche metabolische Verringerung der Bioverfügbarkeit von insbesondere auch hydrophilen Arzneistoffen nicht gelöst wird.

Die Bioverfügbarkeit von peroral zu applizierenden Arzneistoffen wird insbesondere im Gastrointestinaltrakt durch Enzyme der ersten Phase, beispielsweise aus der Oberfamilie der Cytochrom P450 Monooxygenasen, insbesondere CYP-3A, oder der 17 β -Hydroxy-Steroid-Hydrogenasen (17 β -HSD, vgl. in: SANO, T. et al., Clin. Sci. 2001, 101 (5): 485 – 491), insbesondere der 17 β -HSD 2 Isoform, und der zweiten Phase, beispielsweise Sulfatasen, metabolisiert. Hinzu kommt, dass die Bioverfügbarkeit von peroral zu applizierenden Arzneistoffen durch im Darmepithel befindliche Effluxsysteme, insbesondere P-glycoprotein-Transporter (P-gp-Transporter), verringert wird.

In US 6,028,054 A wird durch Zusatz von sogenannten „Bioenhancern“, die eine gastrointestinale Metabolisierung und/oder einen Wiederauswurf durch Effluxsysteme verringern, die Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen erhöht. Diese „Bioenhancer“ werden pharmazeutischen Zubereitungen als weitere Bestandteile zugesetzt und bestehen z.B. aus zwei koplanaren, aromatischen Ringen mit positiver Ladung.

In US 6,121,234 A wird der Zusatz von ätherischen Ölen zu einer pharmazeutischen Zubereitung, die hydrophobe Arzneistoffe enthält offenbart, wobei eine Inhibierung der Enzyme der Cytochrom-P450-3A-Gruppe und der Effluxsysteme auf den ätherischen Ölen basiert.

WO 99/11290 A1 und WO 01/003695 A1 offenbaren jeweils einen Zusatz von Gallensäurepropylester und Vitamin C- Fettsäureester, insbesondere Vitamin-C-Palmitat, zu einer pharmazeutischen Zubereitung, welche eine Erhöhung der Bioverfügbarkeit über eine Inhibierung von Enzyme der Cytochrom-P450-3A-Gruppe erreichen.

- Weiterhin wird in dem Fertigarzneimittelprodukt Kaletra[®] mit dem Wirkstoff Lopinavir, der einem hohen enteralen First-Pass-Metabolismus sowie einem Auswärtstransport durch P-gp-Transporter unterliegt, Ritonavir als Hilfsstoff zugesetzt (Rote Liste, 2002), der in einer Konzentration von 1/6 seiner therapeutischen Dosis die enterale und wahrscheinlich auch die hepatische Metabolisierung und den Auswärtstransport durch die P-gp-Transporter des Lopinavirs verringert.
- 10 Nachteile aus diesem Stand der Technik bestehen darin, dass zum einen zu den pharmazeutischen Zubereitungen jeweils mindestens ein weiterer Stoff zugesetzt werden muss, um eine Inhibierung der jeweiligen Systeme erzielen zu können, jedoch nach den Grundregeln der pharmazeutischen Formulierungs-entwicklung Hilfsstoffe sowohl qualitativ als auch quantitativ auf ein Mindestmaß
- 15 zu beschränken sind. Ein weiterer Nachteil besteht darin, dass die vorangenannten Zusätze eine Eigenwirkung aufweisen können, die zu unerwünschten Belastungen des Organismus führen können. Es kommt hinzu, dass weitere wirkentscheidende Metabolisierungen von Arzneistoffen, wie z.B. Metabolisierungen über 17 β -HSD, wahrscheinlich nicht gehemmt werden. 17 β -HSD 2 weist
- 20 eine hohe Expressionsrate in intestinalem und endometrischem Gewebe (MARTEL, C. et al.: J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 1992, 41: 597 – 603.) auf und metabolisiert Steroide, insbesondere solche, die in Position 17 des Sterangerüsts eine sekundäre, gegebenenfalls betaständige Hydroxylgruppe aufweisen, in die entsprechenden Ketonmetaboliten, wie z.B. Estradiol in Estron (vgl.
- 25 Zhu, B.T. et al., Carciogenesis, 1998, 19 (1): 1 – 27).

Ein Lösungsweg die hohe oxidative Verstoffwechselungsrate von sekundären, betaständigen OH -Gruppen durch die 17 β -HSD 2 zu verringern, besteht darin eine sterische Stabilisierung des Sterangerüsts z.B. durch chemischen Substituenten in 17 α - Position, vgl. u.a. Ethinylestradiol, zu erreichen.

30

Eine galenische Verbesserung der Inhibierung der Metabolisierung von Steroiden mit sekundärer, betaständiger Hydroxylgruppe wird in Price et al, Obstetrics

& Gynecology 1997, 89, S. 340 ff offenbart indem durch sublinguale Applizierung die intestinale Metabolisierung umgangen wird.

Hieraus ist nun ersichtlich, dass das Problem der Verringerung der Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen, die Substrate von intestinalen Enzymen, insbesondere von 17 β -HSD2 und/oder CYP-3A4, und/oder intestinalen Effluxsystemen, insbesondere P-gp-Transporter, sind in peroralen Arzneiformen noch nicht zufriedenstellend gelöst wurde.

Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde eine pharmazeutische Zubereitung zur peroralen Applizierung zu entwickeln, welche zum einen die Löslichkeit von insbesondere lipophilen Arzneistoffen bei insbesondere spontaner Verdünnung mit einem hydrophilen Medium, wie z.B. der Intestinalflüssigkeit oder gereinigtem Wasser, verbessert und darüber hinaus zum anderen einer Verringerung der Bioverfügbarkeit von lipophilen und/oder hydrophilen Arzneistoffen durch intestinale Metabolisierung, insbesondere durch 17 β -HSD2 und/oder CYP-3A4, und/oder durch einen aktiven Auswärtstransport aus den Darmzellen durch intestinale Effluxsysteme, insbesondere P-gp-Transporter (MDR1) oder MRP2 Proteinen, entgegenwirkt.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch eine Zubereitung, die mindestens einen Emulgator, mindestens einen Hilfsemulgator und/oder Solvent sowie mindestens ein Lipid enthält, dadurch gekennzeichnet, dass das Massenverhältnis von Emulgator zu Hilfsemulgator und/oder Solvent (Smix) 1:1 bis 9:1 und der Gesamtlipidanteil > 0 % (m/m) beträgt, wobei diese Zubereitung mindestens ein intestinales Enzym und/oder mindestens ein intestinales Effluxsystem zumindest teilweise inhibiert.

Erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitungen, die intestinale Enzyme und intestinale Effluxsysteme hemmen, werden auch als Enzym-Modulierendes-Selbst-Emulgierendes-System (EMSES) bezeichnet.

Weiterhin wird die Aufgabe gelöst durch eine Verwendung einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zubereitung zur Herstellung eines peroralen Arznei-

mittels, wobei diese Zubereitung mindestens ein interstinales Enzym und/oder mindestens ein interstinales Effluxsystem zumindest teilweise inhibiert.

Des weiteren wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren zur
5 Erhöhung der Bioverfügbarkeit von peroral zu applizierenden Arzneistoffen, wobei eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitung einen Arzneistoff enthält und peroral appliziert wird.

Ein Vorteil der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zubereitung besteht
10 darin, dass sie die Löslichkeit von lipophilen und/oder wasserunlöslichen Arzneistoffen gegenüber dem Stand der Technik verbessert und zugleich zumindest teilweise die Metabolisierung von Arzneistoffen durch intestinale Enzyme und/oder den aktiven Auswärtstransport durch intestinale Effluxsysteme verringert.

15 Ein weiterer Vorteil einer erfindungsgemäßen, wirkstofffreien pharmazeutischen Zubereitung besteht darin, dass diese Zubereitung als Trägersystem für verschiedene Arzneistoffe dienen kann, die über die vorgenannten Profile verfügen, d.h. lipophil sind und/oder durch intestinale Enzyme metabolisiert werden
20 und/oder aktiv durch intestinale Effluxsysteme aus dem Darmepithel zurück in das Darmlumen transportiert werden, und somit zeit- und kostenaufwendige Arzneistoffformulierungen entfallen können.

Ein anderer Vorteil besteht darin, dass die erfindungsgemäße pharmazeutische
25 Zubereitung auf Grund eines sehr geringen Anteils einer hydrophilen Phase weiterhin dazu geeignet ist perorale Arzneiformen, insbesondere Kapseln, mit Vorteil Gelatine kapseln, oder Tabletten, herzustellen. Die vorliegende Erfindung folgt außerdem den Grundregeln der pharmazeutischen Formulierungsentwicklung, nämlich Hilfsstoffe sowohl qualitativ als auch quantitativ auf ein Mindest-
30 maß zu beschränken.

Bevorzugte Ausführungsformen sind in den Unteransprüchen angegeben.

Ein bevorzugte Ausführungsform der Erfindung besteht darin, dass der Smix 3:1 bis 9:1, mit Vorteil 9:1 und der Gesamtlipidanteil 10 bis 50% (m/m) beträgt.

Einen besonders bevorzugte Ausführungsform der Erfindung besteht darin, dass der Emulgator PEG-40-hydriertes Rizinusöl (Cremophor[®]RH40), PEG-35-Rizinusöl (Cremophor[®]EL) oder PEG-400-Monorizinoleat (Estax[®]54), der Hilfs-
emulgator oder Solvent Glycerylmonocaprylat > 80% (m/m) (Imwitor[®]308) oder Diethylenglycolmonoethylether (Transcutol[®]P) und das Lipid Triglyceride, fette Öle oder Wachse enthält.

Besonders bevorzugte Triglyceride enthalten Mittelkettige Triglyceride (MCT), z.B. Miglyol[®]812 (C₈-C₁₂ Triglyceride), bevorzugte fette Öle enthalten Rizinusöl, Olivenöl, Maiskeimöl, Sojaöl, Sonnenblumenkernöl, Erdnussöl, Walnussöl oder Diestelöl, besonders bevorzugt Rizinusöl und bevorzugte Wachse enthalten Ethyloleat oder Isopropylmyristat.

Es ist auch möglich, dass die erfindungsgemäße Zubereitung zusätzlich mindestens einen Arzneistoff enthält.

Arzneistoffe, die aus der Gruppe der Therapeutika, Prophylaktika oder Diagnostika stammen und bevorzugt mit der erfindungsgemäßen Zubereitung formuliert werden sind entweder lipophil und/oder wasserunlöslich alternativ hydrophil.

Bevorzugt werden lipophile Arzneistoffe mit der erfindungsgemäßen Zubereitung formuliert, besonders bevorzugt Arzneistoffe, die Substrate mindestens eines intestinal metabolisierenden Enzyms und/oder eines intestinalen Effluxsystems sind. Mit Vorteil werden hier wiederum solche Arzneistoffe formuliert, die Substrate der 17 β -Hydroxy-Steroid-Dehydrogenasen oder der Cytochrom-P450-Monooxygenasen, mit besonderem Vorteil aus der Gruppe der Cytochrom P 450 3A- Monooxygenasen (CYP3A4) sind oder Substrate eines P-gp-Transporter-Systems sind. Im Sinne dieser Anmeldung bedeutet Substrat mindestens eines intestinalen Enzyms und/oder eines intestinalen Effluxsystems,

-10-

dass diese Stoffe, z.B. Arzneistoffe oder pharmazeutische Hilfsstoffe mit intestinalen Enzymen interagieren und durch diese metabolisiert werden und/oder durch Interaktion mit intestinalen Effluxsystemen durch diese aktiv aus dem Darmepithel zurück in das Darmlumen transportiert werden.

5

Eine ganz besonders bevorzugte Ausführungsart der erfindungsgemäßen Zubereitung stellen als Arzneistoffe Steroide dar, mit Vorteil solche, die in Position 17 des Sterangerüsts eine sekundäre, betaständige Hydroxylgruppe aufweisen und hiervon besonders bevorzugt Estrogene, Antiestrogene oder Androgene.

10

Arzneistoffe, die Substrate von 17 β -HSD darstellen werden im Folgenden aufgeführt, sind jedoch nicht auf die Aufzählung beschränkt, sie beinhalten auch Salze und/oder Derivate dieser Arzneistoffe:

15

11- α -Hydroxynandrolon, 16- α -Fluorestradiol, 16- α -Iodestradiol, 16- β -Fluorestradiol, 2,4-Dibromestradiol, 2-Chlorestradiol, 2-Ethoxyestradiol, 2-Fluorestradiol, 2-Hydroxyestriol, 2-Methoxyestradiol, 2-Methoxyestriol, 2-Methoxymethylestradiol, 3-Methoxyestriol, 4-Bromestradiol, 4-Chlorestradiol, 4-Fluor-17 β -estradiol, 4-Hydroxyestradiol, 4-Hydroxytestosteron, 4-

20

Methoxyestradiol, 5- β -Androstan-17 β -ol-3-on, 6- α -Hydroxyestradiol, 3 α , 17 β -Androstandiol, 3 β , 17 β -Androstandiol, Androstanolon, Androstendiol, Bolandiol, Bolazin, Boldenon, Clostebol, Dacuroniumbromid, 17-Deacetylpancuronium, Dideactetylvecuronium, Vecuronium, 17 β -Dihydroequilin, 5 α -Dihydro-19-nortestosteron, 16 α -Brom-7 α -(N-butyl, N-methyl-undecanamid)-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (EM-105), 16 α -Chlor-7 α -(N-butyl, N-methyl-undecanamid)-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (EM-139), 16 α -Iod-7 α -(N-butyl, N-methyl-undecanamid)-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (EM-156), 16 α -Brom-7 α -(N-butyl, N-methyl-undecanamid)-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (EM-220), Epiestriol, Epitiostanol, Estetrol, Estradiol, Estradiol-3-glucuronid, Estradiol-3-methylether,

30

Estradiol-3-sulfat, Estradiol-3-bezoat, Estradiol-3-hexahydrobenzoat, Estramustin, Estriol, Estriol-3-glucuronid, Estriol-3-sulfat, Estriol-16-glucuronid, Estryamin, 17 β -Hydroxy-6-methylen-androsta-1,4-dien-3-on (FCE-25071), Fulvestrant, 1-Hydroxy-17 β -estradiol, 2-Hydroxy-17 β -estradiol, 4-Hydroxy-17 β -

estradiol, 6-Hydroxy-17 β -estradiol, 7-Hydroxy-17 β -estradiol, 15-Hydroxy-17 β -estradiol, 18-Hydroxy-17 β -estradiol, 7-(N-butyl-undecanamid)-3,17 β -estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (ICI-160325), 7 α -(N-butyl-undecanamid)-3,17 β -estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (ICI-163964), Estra-1,3,5(10)-trien-7 β -(N-

5 butyl)undecanamid-3,17 β -diol (ICI-164275), 7 α -(N-butyl, N-methyl-undecanamid)-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (ICI-164384), Inocoteron, Estra-3-sulfamate-1,3,5(10),7-tetraen-3,17 β -diol (J-1059), Cycloprop[14S,15 β]-3',15-dihydro-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (J-824), Estra-1,3,5(10)-trien-3-sulfamat-17 β -ol (J-995), Mesterolone, Methenolone, 16-Methylenestradiol, Metogest,

10 Nandrolone, Nisterim, Norclostebol, 3-Octyloxy-5 α -androst-3-en-17 β -ol (Octostanol), Estradiol-17-phenylpropionat-Estradiol-benzoat mixt. (ORG-369-2), 7-Ethyl-nandrolone (ORG-41640), 11 β -Chlormethyl-estra-3, 17 β -diol (ORG-4333), Piperidinium-1-[(2 β ,3 α ,5 α ,16 β ,17 β)-3,17-dihydroxy-2-(1-piperidiny)androst-16-yl]-1-methyl-bromid (ORG-7402), 17-Desacetylrocuronium (ORG-9943), O-

15 xendolone, 11 α -Methoxy-7 α -methyl-estra-3-17 β -diol (PDC-7), Quinestradiol, 17 β -Hydroxy-7 α -methyl-androst-5-en-3-one (RMI-12936), 11 α -ethenyl-estra-3, 17 β -diol (RU-39951), 11 β -[4(dimethylamino)phenyl]-estra-3, 17 β -diol (RU-43944), 7 α -{4-[2-(dimethylamino)ethoxy]phenyl}-estra-3,17 β -diol (RU-45144), 11 β -{4-[(methylsulfonyl)oxy]phenyl}-estra-3,17 β -diol (RU-48382), 11 β -{4-[[5-[(4,4,5,5,5-

20 pentafluoropentyl)sulfonyl]pentyl]oxy]phenyl}-estra-3,17 β -diol (RU-58668), 17 β -Dihydroxy-9 α -fluor-11 β -androst-1,4-dien-3-on (SQ-27957), Stenbolone, Cycloprop[14R,15 α]estra-3',15-dihydro-3-methoxy-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (STS-593), Cycloprop[14S,15 β]estra-3',15-dihydro-3-methoxy-1,3,5(10)-trien-17 β -ol (STS-651), Testosterone, Trestolone, Trilostan, 13 β -Ethyl-8 α -gon-1,3,5(10)-trien-

25 3,16 α ,17 β -triol (WY-5090), 13 β -Ethyl-8 β -gon-1,3,5(10)-trien-3,16 α ,17 β -triol, Estra-2-{tricyclo[3.3.1.1^{3,7}]decyl}-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (ZYC-5), Ent-estradiol, 8 β -Vinyl-estradiol, 11 β -Fluor-7 α -{5-[N-methyl-N-3-(4,4,5,5,5-

pentafluoropentylthio)-propylamino]-pentyl}-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (im weiteren AE1), 11 β -Fluor-7 α -{5-[methyl-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-

30 nonafluorodecyl)amino]pentyl}estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (im weiteren AE2), 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-androst-4-en-3-on (WO 99/672275), 17 β -Hydroxy-7 α -Methyl-14 α ,15 α -methylen-androst-4-en-3-on (WO 99/672275), 4-Chlor-17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-androst-4-en-3-on (WO 01/42275),

-12-

4,17 β -Dihydroxy-14 α ,15 α -methylen-androst-4-en-3-on (WO 01/42275), 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-androsta-1,4-dien-3-on (WO 01/42275), 4-Chlor-17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-androsta-1,4-dien-3-on (WO 01/42275), 4-Chlor-17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-estr-4-en-3-on (WO 01/42274), 7 β -Hydroxy-7 α -Methyl-14 α ,15 α -methylen-estr-4-en-3-on (WO 99/67276), 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-estr-4-en-3-on (WO 99/67276), 4,17 β -Dihydroxy-14 α ,15 α -methylen-estr-4-en-3-on (WO 01/42274), 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-estra-4,9,11-trien-3-on (WO 01/42274), 3-Ethyl-17 β -hydroxy-14 α ,15 α -methylen-gon-4-en-3-on (WO 01/42274), 17 α - β -Hydroxy-17 α -homoandrosta-4,15-dien-3-on, 1''-Mesyl-17 α -(trifluormethyl)-1'H-pyrazol[4'',5':2,3]androst-4-en-17 β -ol

Arzneistoffe und Arzneistoffgruppen, die lipophil sind und/oder Substrate von Cytochrom-P450 Monooxygenasen darstellen werden im Folgenden aufgeführt, sind jedoch nicht auf diese Aufzählung beschränkt, sie beinhalten auch Salze und/oder Derivate dieser Arzneistoffe:

Aromatische Kohlenwasserstoffe, Arylamine, heterocyclische Amine, Caffein, Coffein, Theophyllin, Odansertron, Diethylnitrosamin, Cyclophosphamid, R-Methyl-Phenytyon, Antidiabetika- insbesondere Glibenclamid, Rosiglitazon und Tolbutamid- Nicht Steroidale Antirheumatika (NSAR)- insbesondere Diclofenac-Na und Ibuprofen- Coumarin, Phenprocoumon, Warfarin, Sartane, Debrisoquin, Spartein, β -Blocker, Codein, Neuroleptika- insbesondere Haloperidol- Phenothiazine, Risperidon, Selektive Serotonin Reuptake Inhibitoren (SSRI)- insbesondere Fluvoxamin- tricyclische Antidepressiva, Nitrosamine, Chloroxazon, Dihydropyridine, Triazolam, Midazolam, Astemizol, Azol-Antimykotika, Cisaprid, Immunsuppressiva- insbesondere Cyclosporin, Tacrolimus und Sirolimus- Calcium-Antagonisten, Makrolide, Malariamittel- insbesondere Halofantrin und Mefloquin- Pimozid, Proteasehemmer –insbesondere Saquinavir, Ritonavir und Lopinavir- Sildenafil, Statine - insbesondere Artorvastatin, Fluvastatin, Levostatin und Simvastatin- Steroide- Estradiol, 11 β -Fluoro-17 α -methyl-7 α -{5-[methyl-(8,8,9,9,9-pentafluornonyl)amino]pentyl}estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (WO 03/045972), 11 β -Fluor-7 α -{5-[N-methyl-N-3-(4,4,5,5,5-pentafluoropentylthio)-

propylamino]-pentyl}-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (im weiteren AE1), 11 β -Fluoro-7 α -{5-[methyl-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluorodecyl)amino]pentyl}estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (im weiteren AE2), Tamoxifen, Terfenadin

- 5 Arzneistoffe und Arzneistoffgruppen, die Substrate von P-gp-Transportern darstellen werden im Folgenden aufgeführt, sind jedoch nicht auf die Aufzählung beschränkt, sie beinhalten auch Salze und/oder Derivate dieser Arzneistoffe:

Aldosteron, Amidodaron, Azipodine, Bepredil, Bisanthren, Catharantin, Cefazolin, Cefoperazon, Cefotetan, Cefaranthin, Chinchona-Alkaloide, Chlorpromazin, 10 Cisplatin, Clozapin, Cyclosporin, Dexamethason, Dexniguldipin, Dibucain, Digoxin, Dilthiazem, Dipyridamol, Domperidon, Demetin, cis-Flupenthixol, Fluphenazin, Flunitrazepam, Gallopamil, Haloperidol, Hydrocortison, Ivermectin, Loperamid, Methadon, Methotrexat, Mitoxanthon, Monesin, Morphin, Morphin 6-glucoronid, 15 Nicardipin, Odanserton, Perphenazin, Phenoxazin, Phenytoin, Prazosin, Progesteron, Talinolol, Tamoxifen, Terfenadin, Topotecan, Trifluperazin, Triflupromazin, Valinomycin, Verapamil, Vindolin, Yohimbin. Ritonavir, Lopinavir, L-Thyroxin, 11 β -Fluoro-17 α -methyl-7 α -{5-[methyl-(8,8,9,9,9-pentafluor-nonyl)amino]pentyl}estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (WO 03/045972), 11 β -Fluor-7 α -{5-[N-methyl-N-3-(4,4,5,5,5-pentafluoropentylthio)-propylamino]-pentyl}-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (im weiteren AE1) und 11 β -Fluoro-7 α -{5-[methyl-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluorodecyl)amino]pentyl}estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (im weiteren AE2). 20

Eine bevorzugte Ausführung der Verwendung der erfindungsgemäßen Zubereitung besteht darin, dass durch die Verwendung Enzyme aus der Gruppe der 25 Cytochrom-Monooxygenasen, bevorzugt aus der Gruppe der Cytochrom-P450-3A-Monooxygenasen, oder 17 β -Hydroxy-Steroid-Dehydrogenasen und/oder als intestinales Effluxsystem P-gp-Transporter zumindest teilweise inhibiert werden. Die Fähigkeit der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zubereitung die Löslichkeit von lipophilen Phasen wie Triglyceride, fette Öle oder Wachse zu erhöhen, d.h. gut wasserverdünnbar zu machen, wird mittels pseudoternärer Phasendiagramme gezeigt (vgl. Bsp. 3; Fig. 1a,1b). Hierbei werden erfindungsgemäße, wirkstofffreie Zubereitungen, enthaltend Emulgator, Hilfsemulgator 30

und/oder Solvent und Lipid, schrittweise mit einem hydrophilen Medium, z.B. Wasser verdünnt. Als Beurteilungskriterien gelten klar / trübe und ein-/mehrphasig. Klare bis opaleszente, einphasige Systeme wurden in den pseudoternären Phasendiagrammen (vgl. Fig. 1a und 1b) in Abhängigkeit ihres Auftretens bei 25°C oder 37°C sichtbar gemacht. Es hat sich nun gezeigt, dass im Gegensatz zu pharmazeutischen Formulierungen aus EP 670715 B1 bei einer schrittweisen Wasserverdünnung keine Trübung der Verdünnung der erfindungsgemäßen Zubereitung bei einem Wasseranteil über 70% (v/v+m), dem sogenannte Austrittprozentsatz, entstehen und dass erfindungsgemäßen Zubereitungen bis zu einem Wasseranteil von 90% (v/v+m) eine transparente, o/w-Dispersion aufweisen.

Die Fähigkeit der erfindungsgemäßen Formulierung gut spontan wasserverdünnbar zu sein und damit auch eine Löslichkeit von lipophilen Arzneistoffen zu erreichen kann in dem Test auf Selbstemulgierbarkeit überprüft werden (vgl. Bsp. 4; Fig. 2a-e). Dieser Test gibt die Vorgänge, nämlich die spontane Wasserverdünnung von peroral applizierten Formulierungen im Magen, naturgetreuer als die Phasendiagramme wieder, da zu einer im Überschuss vorgelegten hydrophilen Phase die erfindungsgemäße Zubereitung zugegeben wird. Hierbei werden erfindungsgemäße Zubereitungen auf ihre Fähigkeit bei spontaner Wasserverdünnung klare und homogene Dispersion zu bilden, d.h. auf die Fähigkeit zur Selbstemulgierung, überprüft. Dieser Test wird zum einen über eine visuell über Benotung 1 – 5, angelehnt an das Bewertungsschema von Khoo et al., Int. J. of Pharmaceutics, 167 (1998) 155-164 (siehe Tab. 1), und zum anderen über die Ermittlung des hydrodynamischen Teilchendurchmessers mittels Photonen Korrelationsspektroskopie (PCS), bewertet.

Tabelle 1:

Benotungssystem von Emulsionen / Dispersionen nach Selbstemulgierung (Khoo et al., 1998).

| Note | Erscheinung des Systems |
|-------------|---|
| 1 | Klare Dispersion |
| 2 | Klare bis opaleszente Dispersion |
| 3 | Weißliche Emulsion |
| 4 | Gräuliche Emulsion |
| 5 | Keine Selbstemulgierung, Abscheidungen auf der Wasseroberfläche |

Es wurde nun gefunden, dass in erfindungsgemäße Formulierungen, die in der visuellen Beurteilung eine klare und/oder klare bis opaleszente Dispersion ergeben und/oder eine Teilchengröße ≤ 200 nm, insbesondere ≤ 100 nm enthalten, besonders geeignet sind, da davon ausgegangen werden kann, dass der Arzneistoff molekular gelöster Form zur Verfügung steht. Zwischen wirkstofffreien und wirkstoffhaltigen Formulierungen wurde im Test auf Selbstemulgierung kein signifikanter Unterschied bezüglich der Teilchengröße und der visuellen Benotung gefunden.

Hilfsstoffe, die bevorzugt für die erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitung verwendet werden, weisen außerdem auch eine Fähigkeit auf, intestinale Enzyme oder interstinale Effluxsysteme zumindest teilweise zu inhibieren. Die Eignung von pharmazeutischen Hilfsstoffen für die erfindungsgemäße Zubereitung steigt generell mit zunehmender Inhibierung. Solche Potentiale können über dem Fachmann bekannte Testsysteme festgestellt werden.

Die Fähigkeit der erfindungsgemäßen, pharmazeutischen Formulierung 17 β -Hydroxy-Steroid-Dehydrogenasen zumindest teilweise zu inhibieren wird zum einen über in vitro 17 β -HSD-Test bewiesen (vgl. Bsp. 5, Fig. 3). Erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitungen, die Steroide enthalten, welche eine se-

kundäre, betaständige Hydroxylgruppe in Position 17 des Sterangerüsts aufweisen, inhibieren die 17 β -HSD 2, so dass weniger 17-Keto-Biotransformationsprodukt entsteht. Das Inhibierungspotential ist direkt proportional zu dem Massenanteil der erfindungsgemäßen Formulierung. Mit steigender Konzentration (0,0%, 0,003%, 0,01%, 0,03%, 0,1% und 0,3%) einer erfindungsgemäßen Mischung aus Cremophor[®]EL / Miglyol[®] 812/ Transcutol[®]P (72T/ 20T / 8T) im Versuchsansatz verringert sich nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten das Ausmaß der Metabolisierung von 11 β -Fluoro-7 α -{5-[methyl-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluorodecyl)amino]pentyl}estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol (AE2) zum 17-Keton wie folgt (n= 2): 20 % und 23 % -> 21 % und 18 % -> 14 % und 15 % -> 9 % und 8 % -> 5 % und 6 % - 3 % und 3 % des Ausgangswertes an AE2 und es kommt zu einem Anstieg der Menge an genuinem AE 2 nach 30 Minuten in der Mikrosomensuspension (n = 2) 64 % und 66 % -> 70 % und 71 % -> 75 % und 76 % -> 89 % und 83 % -> 109 % und 114 % -> 106 % und 109 % des Ausgangswertes an AE2 (vgl. Bsp5; Fig. 3). Hieraus lässt sich erkennen, dass erfindungsgemäße Formulierungen geeignet sind, 17 β -HSD 2 zu inhibieren.

Ein Nachweis für die Fähigkeit der erfindungsgemäßen Formulierung die Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen, insbesondere von Steroiden mit einer sekundären, betaständigen Hydroxylgruppe in Position 17 des Sterangerüsts, zu erhöhen kann mittels dem Fachmann bekannten in vivo Tests überprüft werden. In dem vorliegenden in vivo Test (vgl. Bsp. 6) werden die Bioverfügbarkeiten von AE2 bei i.v. und p.o. Applizierung ermittelt. Da der Wirkstoff AE2 sehr stark lipophil ist (log P = 5,9), werden pharmazeutischen Zubereitungen verwendet, die jeweils die Löslichkeit des Arzneistoffes in der jeweiligen Formulierung garantieren und somit schon hochentwickelte Systeme darstellen. Es wird als Referenz eine 20%ige HP β CD-Lösung verwendet, die 2% AE2 enthält und sowohl i.v., als auch p.o. verabreicht wird. Als Testformulierung wird die in Bsp. 2a) hergestellte erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitung, enthaltend 2,5 % AE2, Cremophor[®]EL und Transcutol[®]P, Smix 9:1, 20% (m/m) Miglyol[®]812 p.o. verabreicht. In Fig. 4 lässt sich erkennen, dass die erfindungsgemäße Formulierung von AE2 eine um 26% erhöhte Bioverfügbarkeit gegenüber dieser p.o. verab-

reichten 20%igen HP- β -CD Lösung erreicht. Hieraus lässt sich erkennen, dass erfindungsgemäße Formulierungen geeignet sind, die Bioverfügbarkeiten von insbesondere Steroiden zu erhöhen.

- 5 Die Fähigkeit von Hilfsstoffen humane Cytochrom P450 Isoenzyme zu inhibieren wird über einen CYP-Test festgestellt (vgl. Bsp. 7). Die Inhibierung der Enzyme wird hierbei über die Konzentration (IC_{50} , $\mu\text{g/ml}$) der Hilfsstoffe charakterisiert, bei der 50% der jeweiligen Isoenzyme inhibiert werden. Es hat sich gezeigt, dass die CYP-Isoenzyme, insbesondere CYP3A4, durch die erfindungsgemäßen Hilfsstoffe selektiv inhibiert werden. Die erfindungsgemäßen Hilfsstoffe weisen an mindestens einem CYP-Isoenzym mindestens eine $IC_{50} < 1000$ auf, mit Vorteil eine $IC_{50} \leq 100$, d.h. sie besitzen mittlere Aktivität, und mit besonderem Vorteil eine $IC_{50} \leq 10$, d.h. sie besitzen starke Aktivität. Bei der Testung von erfindungsgemäßen Zubereitungen hergestellt nach Bsp. 1a) und
10 /oder 1d) wurde überraschenderweise gefunden, dass sie an Isoenzymen CYP 3A4, CYP 2C9 und CYP 2C19 eine niedrigere IC_{50} als die jeweiligen einzelnen Hilfsstoffe aufweisen und eine mittlere bis starke Aktivität besitzen (vgl. Tab 2).
15

Tabelle 2:

Inhibierungsaktivitäten bzgl. CYP-Isoenzymen von Hilfsstoffen und Formulierungen

| Name | Stoff | IC ₅₀ , µg/ml | | |
|------------------------------|--|-----------------------------|--------------|-------------|
| | | CYP- 2C9 | CYP- 2C19 | CYP- 3A4 |
| Cremophor [®] EL | Polyethylenglycol-35-Rizinusöl | 2,1 | 10 | 16 |
| Cre-mophor [®] RH40 | PEG-40-hydriertes Rizinusöl | 35 | 11 | 23 |
| Estax [®] 54 | PEG-400-monoricinoleat | 1,6 | 0,7 | 3,8 |
| Miglyol [®] 812 | C8-C12 Triglyceride (MCT) | 350 | 100 | 245 |
| raff. Rizinusöl | raffiniertes Rizinusöl (RIZ) | 1150 | >3000 | 930 |
| Transcutol [®] P | Ethoxydiglycol | 1500 | 1400 | 755 |
| Ethyloleat | Ethyloleat (EO) | 195 | 325 | 117 |
| Imwitor [®] 308 | Glycerolmonocaprylat | 5,0 | 6,9 | 29 |
| Tween [®] 80 | Polysorbat 80 | 2,9 | 8,4 | 7,3 |
| HPβCD (s. Bsp. 6) | Hydroxypropyl-β-cyclodextrin | 1750 | 2900 | 1800 |
| Formulierung gemäß Bsp. 1a | Cre-mophor [®] EL:Transcutol [®] P, 9:1 + 20% Miglyol [®] 812 | 21 | 6,4 | 11 |
| Formulierung gemäß Bsp. 1d | Estax [®] 54:Transcutol [®] P, 9:1 + 20% Miglyol [®] 812 | 1,4 | 2,1 | 4,1 |

- 5 Diese Ergebnisse belegen, dass erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitungen intestinale Enzyme, insbesondere 17β-HSD2 und Cytochrom-Isoenzyme, mit Vorteil CYP3A4 inhibieren und somit zu einer Erhöhung der Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen führen können.
- 10 Die Fähigkeit von Hilfsstoffen P-gp-Transporter zu inhibieren wird über einen P-gp-Transporter-Test (vgl. Bsp. 8) bestimmt. In dem vorliegenden Test wird die

-19-

- Aktivität den Transporter zu inhibieren über die Ratio (R) charakterisiert, welches das Verhältnis von Fluoreszenzintensität der Prüflösung zur Fluoreszenzintensität des Blank angibt und direkt proportional zu Inhibierung der P-gp-Transporter ist. Fluoreszenzintensität Prüflösung entspricht der Fluoreszenzintensität, gemessen bei 485 / 535 nm (Exzitation bzw. Emission), der Zellen, die Prüflösung und CalceinAM-Arbeitslösung enthalten. Fluoreszenzintensität Blank entspricht der Fluoreszenzintensität, gemessen bei 485 / 535 nm (Exzitation bzw. Emission), der Zellen, die keine Prüflösung, jedoch CalceinAM-Arbeitslösung enthalten und somit als 0-Wert dienen.
- Es werden für nachstehende Hilfsstoffe in Tab. 3 folgende maximalen Aktivitäten, R-Werte, bzgl. Der Inhibierung von P-gp-Transportern ermittelt:

Tabelle 3:

- Inhibierungsaktivitäten bzgl. P-gp-Transporter von Hilfsstoffen

| Hilfsstoffe | max. R-Wert |
|------------------------------|-------------|
| Cremophor [®] EL | 2,42 |
| Estax [®] 54 | 2,17 |
| Cre-mophor [®] RH40 | 1,63 |
| Raff. Rizinusöl | 1,26 |
| PEG 400 | 1,26 |
| Imwitor [®] 308 | 1,24 |
| Transcutol [®] P | 1,18 |
| Miglyol [®] 812 | 1,13 |

- Hilfsstoffe, die eine Ratio $\geq 1,18$, mit Vorteil $\geq 1,6$ und mit besonderem Vorteil $\geq 2,1$ aufweisen, sind bevorzugt geeignet den aktiven Auswärtstransport von Arzneistoffen durch intestinale Effluxsysteme, insbesondere durch P-gp-Transporter zu inhibieren und zu einer Erhöhung der Arzneistoffbioverfügbarkeit zu führen, wobei in diesem Fall die Arzneistoffe Substrate des P-gp-Transporters sein müssen [R (AE1) = 2,43; R (AE2)] . Solche Hilfsstoffe sind somit bevorzugt geeignet als Hilfsstoffe für die erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitungen zu dienen.
- 10 Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zubereitungen können auf Grund ihrer hohen Wasserverdünnbarkeit und damit ihrer guten Löslichkeit von insbesondere lipophilen Arzneistoffen, sowie ihrer Fähigkeit intestinale Enzyme und/oder den aktiven Auswärtstransport durch intestinale Effluxsysteme zu hemmen als Technologieplattform für verschiedenste, insbesondere die im vor-
- 15 hineingenannten Arzneistoffe genutzt werden. In Tabelle 4 werden die erfindungsgemäßen Formulierungen angegeben, die hierfür bevorzugt verwendet werden. In Tabelle 5 werden möglichen Wirkstoffbeladungen von ausgewählten erfindungsgemäßen pharmazeutischen Formulierungen angegeben.

Tabelle 4:

Wirkstofffreie erfindungsgemäße Formulierungen

| Nr. | Lipid | Emulgator | Hilfsemulgator | Smix |
|------------|---|--|--|-------------|
| 1 | mittelkettige Triglyceride (Miglyol®812) 10% (m/m) | POE-35-Glycerol- triricinoleat (Cre- mophor®EL) | Ethylendiglycolmo- noethylether (Trans- cutol®P) | 1:1 |
| 2 | raff. Rizinusöl 30% (m/m) | POE-40-Glycerol- hydroxystearat (Cre- mophor®RH40) | Glycerolmonocapry- lat (Imwitor®308) | 3:1 |
| 3 | mittelkettige Triglyceride (Miglyol®812) 20% (m/m) | POE-35-Glycerol- triricinoleat (Cre- mophor®EL) | Ethylendiglycolmo- noethylether (Trans- cutol®P) | 9:1 |
| 4 | mittelkettige Triglyceride (Miglyol®812) 30% (m/m) | POE-35-Glycerol- triricinoleat (Cre- mophor®EL) | Glycerolmonocapry- lat (Imwitor®308) | 3:1 |
| 5 | Ethyloleat 40% (m/m) | POE-35-Glycerol- triricinoleat (Cre- mophor®EL) | Glycerolmonocapry- lat (Imwitor®308) | 9:1 |

Tabelle 5:

Wirkstoffhaltige erfindungsgemäße Formulierungen

| Nr. | Lipid | Emulgator | Hilfsemulgator | Smix | WS Beladung |
|------------|--|---|---|-------------|---|
| 1 | mittelkettige Triglyceride (Miglyol®812) | POE-35-Glycerol-triricinoleat (Cre-mophor®EL) | Ethylendiglycol-monoethylether (Transcutol®P) | 1:1 | Bis 500 mg AE1 in 1 g Präkonz. bei 10 % (m/m) Lipid |
| 2 | raff. Rizinusöl | PEG-400-monoricinoleat (Estax®54) | Ethylendiglycol-monoethylether (Transcutol®P) | 9:1 | Bis 75 mg AE2 in 1 g Präkonz. bei 10 % (m/m) Lipid |
| 3 | mittelkettige Triglyceride (Miglyol®812) | POE-35-Glycerol-triricinoleat (Cre-mophor®EL) | Ethylendiglycol-monoethylether (Transcutol®P) | 9:1 | Bis 50 mg AE2 in 1 g Präkonz. bei 20 % (m/m) Lipid |
| 4 | mittelkettige Triglyceride (Miglyol®812) | POE-35-Glycerol-triricinoleat (Cre-mophor®EL) | Glycerolmonocaprylat (Imwitor®308) | 3:1 | Bis 37,5 mg E2 in 1 g Präkonz. bei 10 % (m/m) Lipid |
| 5 | Ethyloleat | POE-35-Glycerol-triricinoleat (Cre-mophor®EL) | Glycerolmonocaprylat (Imwitor®308) | 9:1 | Bis 50 mg E2 in 1 g Präkonz. bei 10 % (m/m) Lipid |

Die nachfolgenden Beispiele stellen bevorzugte Zusammensetzungen der Erfindung dar, ohne die Erfindung jedoch auf diese Beispiele zu limitieren.

Figurenbeschreibung:

5

Fig. 1a:

Pseudoternäres Phasendiagramm einer Mischung aus Cremophor®EL und Imwitor®308, Smix 9:1, Miglyol®812, titriert mit Wasser bei 25°C und 37°C. Schenkelbezeichnungen verlaufen dem Uhrzeigersinn entgegengesetzt. Transparente, monophasische Bereiche bei 25°C und 37°C sind längsgestreift markiert.

10

Fig. 1b:

Pseudoternäres Phasendiagramm einer Mischung aus Cremophor®EL und Transcutol®P, Smix 3:1, Miglyol®812, titriert mit Wasser bei 25°C und 37°C. Schenkelbezeichnungen verlaufen dem Uhrzeigersinn entgegengesetzt. Transparente, monophasische Bereiche bei 25°C und 37°C sind längsgestreift und nur bei 37°C sind ausgefüllt markiert.

15

Fig. 2a:

Test auf Selbstemulgierung einer Mischung enthaltend Cremophor®EL und Transcutol®P, Smix 9:1, 10 bis 60% (m/m), Miglyol®812. Symbol der visuellen Bewertung: □ und Δ; Symbol der Teilchengröße bestimmt mittels PCS (n = 4, mit Standardabweichung): —

20

Fig. 2b:

Test auf Selbstemulgierung einer Mischung enthaltend 2% (m/m) AE2, Cremophor®EL und Transcutol®P, Smix 9:1, 10 bis 60% (m/m), Miglyol®812. Symbol der visuellen Bewertung: □ und Δ; Symbol der Teilchengröße bestimmt mittels PCS (Doppelwerte): —

25

30

Fig. 2c:

Test auf Selbstemulgierung einer Mischung enthaltend 7,5% AE1, Cremophor®EL und Imwitor®308, Smix 3:1, 10 bis 60% (m/m), Miglyol®812. Symbol

der visuellen Bewertung: □; Symbol der Teilchengröße bestimmt mittels PCS (Doppelwerte): —

Fig. 2d:

- 5 Test auf Selbstemulgierung einer Mischung enthaltend 2% E2, Cremophor®EL und Transcutol®P, Smix 9:1, 10 bis 60% (m/m), Miglyol®812. Symbol der visuellen Bewertung: □; Symbol der Teilchengröße bestimmt mittels PCS (Doppelwerte): —

10 **Fig. 2e:**

Test auf Selbstemulgierung einer Mischung enthaltend 2% AE2, Estax®54 und Transcutol®P, Smix 9:1, 10 bis 60% (m/m) Miglyol®812. Symbol der visuellen Bewertung: □; Symbol der Teilchengröße bestimmt mittels PCS (Doppelwerte):

—

15

Fig. 3:

17β-HSD2-Test an Mikrosomen intestinalen Ursprungs. Metabolische Stabilität von 0,3 μM AE2 in einer intestinale Mikrosomensuspension und Entstehung des 17-Ketonmetaboliten nach 30 Min. in Abhängigkeit der Konzentration (m/v) einer erfindungsgemäßen Formulierung enthaltend Cremophor®EL und Transcutol®P, Smix 9:1, 20% (m/m), Miglyol®812.

20

Y-Achse: Prozentualer Anteil von AE2 (Symbol: dunkler Balken) und Ketonmetabolit von AE2 (Symbol: längsgestreifter Balken) X-Achse: Prozentualen Anteil der erfindungsgemäßen Formulierung.

25

Fig. 4:

Vergleich der Serumkonzentrationen von AE 2 in weiblicher Ratten, Symbole ausgefüllt, und dessen 17-Keton-metaboliten, Symbole offen, nach i.v. und p.o. Applikation für die Zeit von 0-24 h, wobei bei Ratte (R) 1 und 2: 5 mg/kg AE 2 in einer 20%igen HPβCD-Lösung i.v., bei R 3: 10 mg/kg AE 2 in einer 20%igen HPβCD-Lösung p.o. und in R 5 und 6: 10 mg/kg AE 2 in einer erfindungsgemäßen Zubereitung gemäß Bsp. 2a verabreicht wird. Y-Achse: Serumkonzentration in ng/ml, X-Achse: Zeit in h, logarithmischer Maßstab.

30

Beispiel 1:**Herstellung erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitungen**

- 5 a) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Cremophor[®]EL, Transcutol[®]P und Miglyol[®]812 hergestellt. Hierfür werden alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt. Es werden 3,6 g Cremophor[®]EL und 400 mg Transcutol[®]P auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in ein Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetrührer (Heidolph MR 3001 K) ge-
- 10 mischt. Diese Zubereitung wird visuell auf Klarheit und Homogenität kontrolliert, d.h. dass das Becherglas vor eine Lichtquelle, alternativ vor einen schwarzen Hintergrund, gehalten wird und der Inhalt des Becherglases keine optisch wahrnehmbare Trübung oder Schwebeteilchen sowie unterschiedliche Phasen aufweist. Daraufhin werden 1,0 g Miglyol[®]812 zu der Mischung
- 15 gegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetrührer eingerührt. Diese pharmazeutische Zubereitung, Grundmischung, wird anschließend visuell auf Klarheit und Homogenität (s.o.) überprüft.
- 20 b) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Cremophor[®]EL, Imwitor[®]308 und Miglyol[®]812 hergestellt. Hierfür müssen alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt werden. Imwitor[®]308 muss vor der Verwendung durch Erhitzen auf 40°C auf einem beheizbaren Magnetrührer (Heidolph MR 3001 K) in eine fließfähige Form
- 25 überführt werden. Es werden 3,6 g Cremophor[®]EL und 400 mg geschmolzenes Imwitor[®]308 auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in einem Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetrührer (Heidolph MR 3001 K) gemischt. Die Homogenität und Klarheit wird visuell (s. Bsp. 1a) kontrolliert. Daraufhin wird 1,0 g Miglyol[®]812 der Mischung hinzugegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g.
- 30 Magnetrührer eingerührt. Diese Grundmischung wird visuell auf Klarheit und Homogenität (s. Bsp. 1a) überprüft.

- c) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Cremophor[®]RH40, Transcutol[®]P und Miglyol[®]812 hergestellt. Cremophor[®] RH40 muss vor der Verwendung durch Erhitzen auf 40°C auf einem beheizbaren Magnetprüfer (Heidolph MR 3001 K) in eine fließfähige Form überführt werden. Zudem müssen alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt werden. Es werden 3,6 g Cremophor[®]RH40 und 400 mg Transcutol[®]P auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in einem Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetprüfer (Heidolph MR 3001 K) gemischt. Die Homogenität und Klarheit wird visuell (s. Bsp. 1a) kontrolliert. Daraufhin wird 1,0 g Miglyol[®]812 der Mischung hinzugegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetprüfer eingerührt. Diese Grundmischung wird visuell auf Klarheit und Homogenität (s. Bsp. 1a) überprüft.
- d) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Estax[®]54, Transcutol[®]P und Miglyol[®]812 hergestellt. Hierfür müssen alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt werden. Es werden 3,6 g Estax[®]54 und 400 mg Transcutol[®]P auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in einem Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetprüfer (Heidolph MR 3001 K) gemischt. . Die Homogenität und Klarheit wird visuell (s. Bsp. 1a) kontrolliert. Daraufhin wird 1,0 g Miglyol[®]812 der Mischung hinzugegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetprüfer eingerührt. Diese Grundmischung wird visuell auf Klarheit und Homogenität (s. Bsp. 1a) überprüft.
- e) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Estax[®]54, Imwitor[®]308 und Miglyol[®]812 hergestellt. Hierfür müssen alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt werden. Imwitor[®]308 muss vor der Verwendung durch Erhitzen auf 40°C auf einem beheizbaren Magnetprüfer (Heidolph MR 3001 K) in eine fließfähige Form überführt werden. Es werden 3,6 g Estax[®]54 und 400 mg Imwitor[®]308 auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in einem Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetprüfer (Hei-

dolph MR 3001 K) gemischt. Die Homogenität und Klarheit wird visuell (s. Bsp. 1a) kontrolliert.

5 Daraufhin wird 1,0 g Miglyol[®]812 der Mischung hinzugegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetprüher eingerührt. Diese Grundmischung wird visuell auf Klarheit und Homogenität (s. Bsp. 1a) überprüft.

f) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Estax[®]54, Transcutol[®]P und raffiniertem Rizinusöl hergestellt.

10 Hierfür müssen alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt werden. Es werden 3,6 g Estax[®]54 und 400 mg Transcutol[®]P auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in einem Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) gemischt. Die Homogenität und Klarheit wird visuell (s. Bsp. 1a) kontrolliert. Daraufhin wird 1,0 g raffiniertes Rizinusöl der Mischung hinzugegeben und
15 für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetprüher eingerührt. Diese Grundmischung wird visuell auf Klarheit und Homogenität (s. Bsp. 1a) überprüft.

g) Es werden 5g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Estax[®]54, Transcutol[®]P und Ethyloleat hergestellt.

20 Hierfür müssen alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt werden. Es werden 3,6 g Estax[®]54 und 400 mg Transcutol[®]P auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in einem Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) gemischt. Die Homogenität und Klarheit wird visuell (s. Bsp. 1a) kontrolliert. Daraufhin wird 1,0 g Ethyloleat der Mischung hinzugegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetprüher eingerührt. Diese Grundmischung
25 wird visuell auf Klarheit und Homogenität (s. Bsp. 1a) überprüft.

h) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Estax[®]54, Transcutol[®]P und Polyethylenglykol 400 hergestellt.
30 Hierfür müssen alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt werden. Es werden 3,6 g Estax[®]54 und 400 mg Polyethylenglykol 400 auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in einem Becherglas eingewo-

-28-

gen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) gemischt. Die Homogenität und Klarheit wird visuell (s. Bsp. 1a) kontrolliert. Daraufhin wird 1,0 g Miglyol®812 der Mischung hinzugegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetprüher eingerührt. Diese Grundmischung wird visuell auf Klarheit und Homogenität (s. Bsp. 1a) überprüft.

- i) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Cremophor®RH40, Transcutol®P und raffiniertem Rizinusöl hergestellt.

Cremophor®RH40 muss vor der Verwendung durch Erhitzen auf 40°C auf einem beheizbaren Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) in eine fließfähige Form überführt werden. Zudem müssen alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt werden. Es werden 3,6 g Cremophor®RH40 und 400 mg Transcutol®P auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in einem Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) gemischt. Die Homogenität und Klarheit wird visuell (s. Bsp. 1a) kontrolliert. Daraufhin wird 1,0 g raffiniertes Rizinusöl der Mischung hinzugegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetprüher eingerührt. Diese Grundmischung wird visuell auf Klarheit und Homogenität (s. Bsp. 1a) überprüft.

- j) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Cremophor®RH40, Transcutol®P und Ethyloleat hergestellt.
- Cremophor®RH40 muss vor der Verwendung durch Erhitzen auf 40°C auf einem beheizbaren Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) in eine fließfähige Form überführt werden. Zudem müssen alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt werden. Es werden 3,6 g Cremophor®RH40 und 400 mg Transcutol®P auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in einem Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) gemischt. Die Homogenität und Klarheit wird visuell (s. Bsp. 1a) kontrolliert. Daraufhin wird 1,0 g Ethyloleat der Mischung hinzugegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetprüher

eingerrührt. Diese Grundmischung wird visuell auf Klarheit und Homogenität (s. Bsp. 1a) überprüft.

- 5 k) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Cremophor®RH40, Imwitor®308 und Miglyol®812 hergestellt. Imwitor®308 muss vor der Verwendung durch Erhitzen auf 40°C auf einem beheizbaren Magnetrührer (Heidolph MR 3001 K) in eine fließfähige Form überführt werden. Hierfür müssen alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt werden. Es werden 3,6 g Estax®54 und 400 mg Imwitor®308 auf
10 einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in einem Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetrührer (Heidolph MR 3001 K) gemischt. Die Homogenität und Klarheit wird visuell (s. Bsp. 1a) kontrolliert. Daraufhin wird 1,0 g Miglyol®812 der Mischung hinzugegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetrührer eingerrührt.
15 Diese Grundmischung wird visuell auf Klarheit und Homogenität (s. Bsp. 1a) überprüft.
- l) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Cremophor®EL, Transcutol®P und raffiniertem Rizinusöl hergestellt.
20 Hierfür werden alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt. Es werden 3,6 g Cremophor®EL und 400 mg Transcutol®P auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in ein Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetrührer (Heidolph MR 3001 K) gemischt. Diese Zubereitung wird visuell auf Klarheit und Homogenität kontrolliert, d.h. dass das Becherglas vor eine Lichtquelle, alternativ vor einen
25 schwarzen Hintergrund, gehalten wird und der Inhalt des Becherglases keine optisch wahrnehmbare Trübung oder Schwebeteilchen sowie unterschiedliche Phasen aufweist. Daraufhin werden 1,0 g raffiniertes Rizinusöl zu der Mischung gegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetrührer
30 eingerrührt. Diese pharmazeutische Zubereitung, Grundmischung, wird anschließend visuell auf Klarheit und Homogenität (s.o.) überprüft.

m) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Cremophor[®]EL, Transcutol[®]P und Ethyloleat hergestellt.

Hierfür werden alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt. Es werden 3,6 g Cremophor[®]EL und 400 mg Transcutol[®]P auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in ein Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) gemischt. Diese Zubereitung wird visuell auf Klarheit und Homogenität kontrolliert, d.h. dass das Becherglas vor eine Lichtquelle, alternativ vor einen schwarzen Hintergrund, gehalten wird und der Inhalt des Becherglases keine optisch wahrnehmbare Trübung oder Schwebeteilchen sowie unterschiedliche Phasen aufweist. Daraufhin werden 1,0 g Ethyloleat zu der Mischung gegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetprüher eingerührt. Diese pharmazeutische Zubereitung, Grundmischung, wird anschließend visuell auf Klarheit und Homogenität (s.o.) überprüft.

15

n) Es werden 5 g einer erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitung enthaltend Cremophor[®]EL, Imwitor[®]308 und Ethyloleat hergestellt.

Imwitor[®]308 muss vor der Verwendung durch Erhitzen auf 40°C auf einem beheizbaren Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) in eine fließfähige Form überführt werden. Hierfür werden alle Hilfsstoffe vor ihrer Verwendung gut geschüttelt. Es werden 3,6 g Cremophor[®]EL und 400 mg Imwitor[®]308 auf einer "Genius" - Analysenwaage (Sartorius, Göttingen) in ein Becherglas eingewogen und für 5 Minuten bei 500 UpM auf einem Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) gemischt. Diese Zubereitung wird visuell auf Klarheit und Homogenität kontrolliert, d.h. dass das Becherglas vor eine Lichtquelle, alternativ vor einen schwarzen Hintergrund, gehalten wird und der Inhalt des Becherglases keine optisch wahrnehmbare Trübung oder Schwebeteilchen sowie unterschiedliche Phasen aufweist. Daraufhin werden 1,0 g Ethyloleat zu der Mischung gegeben und für 5 Minuten bei 500 UpM auf o.g. Magnetprüher eingerührt. Diese pharmazeutische Zubereitung, Grundmischung, wird anschließend visuell auf Klarheit und Homogenität (s.o.) überprüft.

30

Die Beispiel 1a)-n) lassen sich demnach mit einem Smix von 9:1, und einem Lipidgehalt (m/m) in der Grundmischung von 20% charakterisieren. Weitere Kombinationen aus diesen Hilfsstoffzusammensetzung ergeben sich zum einen durch ein Ersetzen der Lipidphase durch die amphiphile Phase (Smix), so dass die Zusammensetzung z.B. 10% MCT (Miglyol®812) in der Grundmischung enthält, oder durch ein Ersetzen des Anteils an Emulgatorenmischung (Smix) durch das verwendete MCT. Die Grundmischung enthielte dann typischer Weise 30%, 40% oder 50% Gesamtlipidanteil. Weiterhin lassen sich durch eine Veränderung des Smix zu 3:1 oder 1:1 weitere Kombinationen in gleicher Weise erstellen, die sich als erfindungsgemäße Zubereitungen geeignet sind.

Beispiel 2:

Herstellung wirkstoffhaltiger pharmazeutischer Zubereitungen

- a) Es werden 12,5 mg 11 β -Fluoro-7 α -{5-[methyl-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluorodecyl)amino]pentyl}estra-1,3,5(10)-triene-3,17 β -diol (AE 2) zu 5 g der pharmazeutische Zubereitung aus Beispiel 1a) beigemengt und so lange auf dem Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) gerührt, bis der Wirkstoff sich in der Formulierung klar gelöst hat (Überprüfung der Klarheit s. Bsp. 1a). Zur Beschleunigung der Arzneistofflöslichkeit in der Grundlösung erfolgt eine Wärmezufuhr unter Rühren auf ca. 40°C auf dem o.g. Magnetprüher. Nach 24 h wird erneut die Klarheit des Systems überprüft (s. Bsp. 1a).
- b) Es werden 10,0 mg 1,3,5 (10)-Estratrien-3,17 β -diol x ½ H₂O, im folgenden Estradiol (E2) genannt, zu 5 g der pharmazeutische Zubereitung aus Beispiel 1a) beigemengt und so lange auf dem Magnetprüher (Heidolph MR 3001 K) gerührt, bis der Wirkstoff sich in der Formulierung klar gelöst hat (Überprüfung der Klarheit s. Bsp. 1a). Zur Beschleunigung der Arzneistofflöslichkeit in der Grundlösung erfolgt eine Wärmezufuhr unter Rühren auf ca. 40°C auf dem o.g. Magnetprüher. Nach 24 h wird erneut die Klarheit des Systems überprüft (s. Bsp. 1a).

- c) Es werden 10,0 mg AE 2 zu 5 g der pharmazeutische Zubereitung aus Beispiel 1d) beigemischt und so lange auf dem Magnetrührer (Heidolph MR 3001 K) gerührt, bis der Wirkstoff sich in der Formulierung klar gelöst hat (Überprüfung der Klarheit s. Bsp. 1a). Zur Beschleunigung der Arzneistofflöslichkeit in der Grundlösung erfolgt eine Wärmezufuhr unter Rühren auf ca. 40°C auf dem o.g. Magnetrührer. Nach 24 h wird erneut die Klarheit des Systems überprüft (s. Bsp. 1a).
- d) Es werden 37,5 mg 11 β -Fluor-7a-[5-methyl-{4,4,5,5,5-pentafluoropentyl-9sulfanyl}-propyl}amino)-pentyl]-estra-1,3,5(10)-trien-,3,17 β -diol (AE1) zu 5 g der pharmazeutische Zubereitung aus Beispiel 1b) beigemischt, wobei der Smix 3:1 beträgt, und so lange auf dem Magnetrührer (Heidolph MR 3001 K) gerührt, bis der Wirkstoff sich in der Formulierung klar gelöst hat (Überprüfung der Klarheit s. Bsp. 1a). Zur Beschleunigung der Arzneistofflöslichkeit in der Grundlösung erfolgt eine Wärmezufuhr unter Rühren auf ca. 40°C auf dem o.g. Magnetrührer. Nach 24 h wird erneut die Klarheit des Systems überprüft (s. Bsp. 1a).

20

Beispiel 3:**Test auf schrittweise Wasserverdünnung; pseudoternäre Phasendiagramme**

- Es werden jeweils 1,0 g der erfindungsgemäßen Grundmischungen analog Bsp. 1b), enthaltend Cremophor[®]EL, Imwitor[®]308 (Smix 9:1) und Miglyol[®]812 [variierender Gesamtlipidanteil von 0-100% (m/m)], und analog Bsp. 1a), enthaltend Cremophor[®]EL, Transcutol[®]P (Smix 3:1) und Miglyol[®]812 [variierender Gesamtlipidanteil von 0-100% (m/m)], jeweils ein Magnetührstäbchen in jeweils ein 16 ml Reagenzglas mit Schliff gegeben. Jede dieser Zubereitungen wird mit Hilfe eines Mischers, MS 1 Minishaker (Fa. IKA, Staufen), auf höchster Stufe für 2-3 Minuten homogen vermischt. Nach der ersten visuellen Beurteilung bei 25°C (s. Bsp. 1a) wird zu jeder Grundmischung anteilig jeweils 10% (v/v+w) Wasser

mittels einer Eppendorfpipette zum vorliegenden Ansatz hinzugegeben. Die Systeme werden nach jedem Titrationsschritt ca. 10 s auf dem Kontaktschüttler durchmischt. Es folgt ein temperiertes Equilibrieren bei 37°C (Thermostat F20 MH von Julabo, Seelbach für ein 15l Wasserbad) bei einer Rührgeschwindigkeit von ca. 270 UpM (Variomag[®] Telemodul 40S mit 60 Magnetührpositionen). Eine visuelle Beurteilung bei 37°C (s. Bsp. 1a) findet nach 0,25 – 0,5 h statt. Wasser wird bis zu einem Gesamtwassergehalt von 90% (v/v+w) gemäß der vorstehenden Methode zugegeben.

Treten im Verlauf dieser Verdünnungen halbfeste und gelartige Ansätze auf, werden diese erhitzt (Wasserbad mit 60°C) und daraufhin homogenisiert.

Die so erhaltenen Phasendiagramme sind in Fig. 1a und 1b dargestellt und zeigen, dass insbesondere erfindungsgemäße Grundmischungen mit einem Smix von 9:1 bis zu einem Gesamtlipidanteil von 50% (m/m) und erfindungsgemäße Grundmischungen mit einem Smix von 3:1 bis zu einem Gesamtlipidanteil von 30% (m/m) in der wasserfreien Grundmischung bis mindestens 90% (v/v+w) Gesamtwassergehalt eine klare und homogene Emulsion aufweisen somit für die erfindungsgemäße pharmazeutischen Zubereitungen geeignet sind.

Beispiel 4:

Test auf Selbstemulgierbarkeit von wirkstofffreien pharmazeutischen Zubereitungen

- a) Es werden jeweils 500 mg der nach Beispiel 1b) hergestellten Grundmischung enthaltend Cremophor[®]EL und Imwitor[®]308, Smix 9:1, und einen jeweiligen Gesamtlipidanteil von 10, 20, 30, 40, 50, und 60% (m/m) Miglyol[®]812 auf einer Analysenwaage ("Genius", Fa. Sartorius, Göttingen) in jeweils eine 1 ml Einmalspritze eingewogen. Die gefüllte Spritze wird tropfenweise zu 250 ml purelab[®] Wasser gegeben, das auf 37°C erwärmt und in einer Freisetzungssapparatur DT7R (ERWEKA, Heusenstamm) mit Blattrührereinsatz mit 60 Umdrehungen pro Minute gerührt wird. Das Freisetzungsgesäß wird vor dem Versuch mit demineralisiertem Wasser gereinigt und am Ende der Reinigungsprozedur mit purelab[®] Wasser gespült.

Die Verdünnungen werden nach 10 Minuten zum einen visuell benotet und zum anderen wird die Teilchengröße mittels PCS ermittelt (vgl. Fig. 2a).

5 Die Teilchengrößenmessung per PCS erfolgt bei einer Messtemperatur von oder 37°C. Als Brechungswinkel der dispergierten Phasen diene 1,46. Der Viskositätswert dieser stark verdünnten Systeme wurde in der Grundeinstellung des Gerätes belassen (Viskositätswert für Wasser in Abhängigkeit der Temperatur).

10

Wie in Fig. 2a) erkennbar ist, sind Zusammensetzungen mit 10 - 40 % (m/m) Lipid im Präkonzentrat bevorzugt, da sie klare bis bläulich schimmernde Dispersionen (visuelle Beurteilungen von 1 und 2) mit Teilchengrößen von < 200 nm aufweisen. Besonders bevorzugt sind Zusammensetzung mit 10 - 30 % (m/m) Lipid im Präkonzentrat, die klare Dispersionen (visuelle Beurteilungen von 1) und Teilchengrößen von < 100 nm aufweisen, da man hierbei davon ausgehen kann, dass der Wirkstoff in einer gelösten Form zur Verfügung steht.

15

Es wurde die Teilchengröße mit einer Probenanzahl $n = 4$ ermittelt, so dass

20

die Standardabweichung nach folgender Formel $S = \sqrt{\frac{n \sum x^2 - (\sum x)^2}{n(n-1)}}$ in die

Figuren eingetragen wird. Die offenen Dreieckigen offenen Symbole geben die visuellen Beurteilungen der unterschiedlichen Proben an.

25

b) Es werden 500 mg der analog Beispiel 2d) hergestellten wirkstoffhaltigen Grundmischung enthaltend 2% (m/m) AE2, Cremophor®EL und Imwitor®308, Smix 9:1, und einen jeweiligen Gesamtlipidanteil von 10, 20, 30, 40, 50, und 60% (m/m) Miglyol®812 nach Beispiel 4a) auf die spontane Wasserverdünnbarkeit getestet.

30

Wie in Fig. 2b) erkennbar ist besteht zu der Figur 2a kein signifikanter Unterschied in der visuellen Beurteilung, wie auch in der Teilchengröße.

- c) Es werden jeweils 500 mg der analog Beispiel 2d) hergestellten wirkstoffhaltigen Grundmischung enthaltend 7,0 % (m/m) AE1, Cremophor[®]EL und Imwitor[®]308, Smix von 3:1, und einen jeweiligen Gesamtlipidanteil von 10, 20, 30, 40, 50, und 60% (m/m) Miglyol[®]812 nach Beispiel 4a) auf die spontane Wasserverdünnbarkeit getestet.

Wie in Fig. 2c) erkennbar ist, sind besonders Zusammensetzung mit 10 - 50 % (m/m) Lipid im Präkonzentrat besonders bevorzugt, da sie klare Dispersionen (visuelle Beurteilungen von 1) und Teilchengrößen von < 100 nm ergeben und damit davon ausgegangen werden kann, dass der Wirkstoff in einer gelösten Form zur Verfügung steht.

- d) Es werden jeweils 500 mg der analog Beispiel 2b) hergestellten wirkstoffhaltigen Grundmischung enthaltend 2,0 % (m/m) E2, Cremophor[®]EL und Transcutol[®]P, Smix 9:1, und einen jeweiligen Gesamtlipidanteil von 10, 20, 30, 40, 50, und 60% (m/m) Rizinusöl (RIZ) nach Beispiel 4a) auf die spontane Wasserverdünnbarkeit getestet.

Wie in Fig. 2d) erkennbar ist, sind Zusammensetzungen mit 10 - 40 % (m/m) Lipid im Präkonzentrat bevorzugt, da sie klare bis bläulich schimmernde Dispersionen (visuelle Beurteilungen von 1 und 2) und Teilchengrößen von < 200 nm ergeben; besonders bevorzugt sind Zusammensetzung mit 10 - 30 % (m/m) Lipid im Präkonzentrat, die klare Dispersionen (visuelle Beurteilungen von 1) und Teilchengrößen von < 100 nm ergeben, da hierbei davon ausgegangen werden kann, dass der Wirkstoff in einer gelösten Form zur Verfügung steht.

- e) Es werden jeweils 500 mg der analog Beispiel 2c) hergestellten wirkstoffhaltigen Grundmischung enthaltend 2,0 % (m/m) AE2, Estax[®]54 und Transcutol[®]P, Smix 9:1, und einen jeweiligen Gesamtlipidanteil von 10, 20, 30, 40, 50, und 60% (m/m) Miglyol[®] nach Beispiel 4a) auf die spontane Wasserverdünnbarkeit getestet.

-36-

Wie in Fig. 2e) erkennbar ist, sind Zusammensetzungen mit 40 und 50 % (m/m) Lipid im Präkonzentrat bevorzugt, da sie klare bis bläulich schimmernde Dispersionen (visuelle Beurteilungen: 2) und Teilchengrößen von < 200 nm ergeben. In diesen Fällen kann davon ausgegangen werden, dass
 5 der Wirkstoff in einer gelösten Form zur Verfügung steht.

Beispiel 5:

Metabolische Stabilität, in vitro 17 β -HSD2-Test

10

Es wird eine erfindungsgemäße Formulierung analog Bsp. 1a) hergestellt, enthaltend Cremophor[®]EL und Transcutol[®]P, S_{mix} 9:1, 20% (m/m) Miglyol[®]812, auf ihre Eigenschaft 17 β -HSD2 in intestinalen Mikrosomen zu inhibieren getestet. 17 β -HSD2 vermittelt die intestinale enzymatische Dehydrogenisierung einer
 15 OH-Gruppe in Position 17 des Sterangerüsts zu einer Keton-Gruppe. Eine Inhibierung der 17 β -HSD2 wird über eine Testsubstanz, AE2, die Substrat dieses Enzyms ist und zu einem 17-Keto-Produkt biotransformiert wird, gemessen. Es wird das Verhältnis der AE2-Konzentration und des 17-Keton-Biotransformationsprodukts zu bestimmten Zeitpunkten (0, 10, 20, 30, 45 und
 20 60 Minuten) jeweils zur Anfangs-AE2-Konzentration in % (m/m) ermittelt.

Für diesen Versuch werden folgende Materialien verwendet:

Na-Phosphatpuffer: 100 mM Na₂HPO₄ x 2H₂O und 100 mM NaH₂PO₄ x H₂O
 25 **Testsubstanzlösung von AE2:** AE2 50 μ M in MeOH (im Versuchsansatz 0,3 μ M)

Formulierungsansätze der o.g. erfindungsgemäßen Formulierung (%m/v):
 0%, 0,00441%, 0,0147%, 0,0441%, 0,147% und 0,441% Formulierung in Na-Phosphatpuffer (im Versuchsansatz 0%, 0,003%, 0,01%, 0,03%, 0,01% und
 30 0,3% Formulierung).

Kofaktor-Lösung: 2 mL Glucose-6-Phosphat (160mM) / MgCl₂(80mM)-Mix werden zu 400 μ L einer Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Lösung gegeben, anschließend werden 15,6 mg NADP und 13,4 mg NAD zugegeben.

-37-

Mikrosomen-Lösung: Intestinale Mikrosomen (InVitroTechnologies; Proteingehalt: 24 mg/mL; CYP450-Gehalt: 0,058nmol/mg Protein)

Im Wasserbad bei 37°C aufgetaut (~60sec) und auf eine Konzentration von 5 mg/mL Protein mit Na-Phosphatpuffer verdünnt.

5

Es werden jeweils 170 µL/well der Formulierungspuffer und 5 µL/well Testsubstanzlösung von AE2 in die entsprechenden Wells vorgelegt, wobei für jeden Messzeitpunkt (0, 10, 20, 30, 45 und 60 Minuten) Doppelwerte angesetzt werden.

- 10 Zu den 0 Minuten-Werten wird jeweils 250µL eiskaltes MeOH gegeben. Unverzüglich danach werden zu allen Wells 25µL Mikrosomen-Lösung und 50µL Kofaktor-Lösung gegeben. Die Proben der 0-Minuten-Werte werden ohne Inkubation bei ~ -20°C für ca. 24h gelagert. Die anderen Proben werden jeweils für 10, 20, 30, 45 und 60 Minuten bei 37°C inkubiert und durch die Zugabe von jeweils
- 15 250 µL eiskaltem MeOH nach diesen Zeitpunkten wird die Dehydrogenierungsreaktion gestoppt. Die Proben werden bis zur Vermessung per HPLC bei ~ -20°C ca. 24h gelagert und vor der HPLC-Analyse bei 3000 Upm zentrifugiert, wobei der Überstand vermessen wird.

- Die per HPLC gemessenen Konzentrationen an AE2 und 17 Keton-Produkt von
- 20 AE2 werden in Fig. 3 wiedergegeben.

Beispiel 6:

- In vivo i.v./p.o. Test auf Inhibierung intestinaler 17β-HSD2 durch erfindungsgemäße Formulierungen in Ratten**
- 25

Verwendete Tiere: Ratte, weiblich, 200-250 g, SchöWistar

- Verwendete HPβCD-Lösung:** Es werden 20,0 g Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin (HPβCD) in 90 ml Wasser für Injektionszwecke gelöst. 1.6 ml einer
- 30 1 N HCl Lösung werden zu der Cyclodextrin - Lösung gegeben. Anschließend werden 2,0 g AE2 zu der wässrigen Cyclodextrin Lösung gewogen und bei Raumtemperatur gelöst. 0.2 g NaCl und 0.242 g Trometamol werden abgewogen und in der wirkstoffhaltigen Cyclodextrin Lösung gelöst. Mit 1 N HCl wird auf

-38-

pH 7.4 eingestellt. Es wird mit Wasser für Injektionszwecke auf ein Endvolumen von 100.0 ml aufgefüllt und umgeschüttelt. Die Lösung wird über 0.2 µm Membranfilter filtriert und 20 min. bei 121°C autoklaviert.

Verwendete erfindungsgemäße Formulierung: Zubereitung analog Bsp 2a)

- 5 hergestellt, enthaltend 2 % (m/m) AE2, Cremophor®EL und Transcutol®P, Smix 9:1, 20% (m/m) Miglyol®812

Verwendete Dosis: i.v. 5 mg/kg AE2 in 20%ige HPβCD-Lösung
p.o. 10 mg/kg AE2 in 20%ige HPβCD-Lösung bzw.
erfindungsgemäße Formulierung

10

Der Versuch erstreckt sich über einen Zeitraum von 3 Tagen.

Tag 1: Es werden an Ratten (R:1, 2, 3, 5, 6) eine Katheterisierung der Vena Jugularis unter Narkorennarkose vorgenommen.

- 15 Tag 2: Es werden R 1 und 2: jeweils 5 mg/kg AE2-HPβCD-Lösung i.v. über die Schwanzvene, R3: 10 mg/kg AE2-HPβCD-Lösung und R 5 und 6: jeweils 10 mg/kg AE2haltige erfindungsgemäße Formulierung (o.g.) p.o. über die p.o.-Applikationnnadel appliziert. Blutabnahmen werden zu den vorgegeben Zeitpunkten (i.v.: 5, 15, 30, 45 Minuten, 1, 2, 4, 6, 8 und 24 h; p.o.: 15, 30, 45 Minuten, 1, 2, 4, 6, 8 und 24 h) über den Jugularis-Katheter abgenommen und nach Probenaufarbeitung Teil 1 aufbereitet.

20

Tag 3: Abnahme der 24 h-Werte aus der Hohlvene, Probenaufarbeitung Teil 1 und 2

25

Probenaufarbeitung:

Teil 1: Serumgewinnung 30 Minuten nach erfolgter Blutabnahme durch Zentrifugation bei 3000g für 5 min. Anschließend werden 100µL des Serums 1:5 mit Acetonitril zur Fällung versetzt. Probenlagerung bis zur Analytik per LC/MS/MS bei ~ -20°C (mind. 24h).

30

Teil 2: Zentrifugation des gefällten Serums (s. Teil 1) bei 5000g für 5 min; Abpiettieren der Aliquots für die Analytik per LC/MS/MS

Die pharmakokinetischen Parameter werden mittels des Programms WinNonlin[®] errechnet. Die jeweiligen Konzentrationen von AE2 und des Metaboliten werden in Fig. 4 wiedergegeben.

5

Beispiel 7:

Cytochrom P450 Inhibitionstest, in vitro CYP-Test

10 **Materialien für diese in vitro Tests:**

96-Loch-Platten, für Fluoreszenzmessungen geeignet

Schüttler/Inkubator für 37 °C,

Platten-Fluoreszenz-Reader (Fluostar)

Inkubationspuffer: Kalium-Phosphatpuffer, pH 7.4 (KP-Puffer)

15 **Stopplösung:** Acetonitril/ Tris Base 0.5 M, 80/20 (V/V)

Lösungen der Prüfsubstanzen und Positiv-Kontrolle in Acetonitril, Verdünnungen mit Inkubationspuffer.

Prüfsubstanzen: Cremophor[®]EL, Cremophor[®]RH40, Estax[®]54, Miglyol[®]812, raff. Rizinusöl, Transcutol[®]P, Ethyloleat, Imwitor[®]308,
 20 Tween[®]80, 20%igen HPβCD-Lösung (Herstellung in Bsp. 6 beschrieben), erfindungsgemäße Formulierung aus Bsp. 1a), und Bsp. 1d)

Es werden Stammlösungen der jeweiligen Prüfsubstanzen bzw. -formulierungen
 25 in Acetonitril hergestellt und mit Inkubationspuffer verdünnt (im Ansatz 3 mg/ml in 2% Acetonitril); weitere Konzentrationen werden durch serielle Verdünnung hergestellt. Konzentration des Acetonitril beträgt höchstens 2% in allen Ansätzen.

30 Die Inkubationen werden im 96-Lochplattenformat mit 200µl Gesamtvolumen in Doppelwerten angesetzt. Der Backgroundansatz kontrolliert die Fluoreszenz des Ansatzes ohne Enzym und erfindungsgemäße Formulierung, die Eigenfluoreszenz der Substanzen wird in der Pufferverdünnung bestimmt. Die Zuberei-

-40-

tung der Verdünnungen und das Pipetierschema entspricht der Originalvorschrift des Herstellers des Prüfkits (Gentest Corp., Woburn, MA, USA).

Die Ansätze werden durch Zugabe des Enzym/Substratgemisches gestartet, 30 bzw. 45 Minuten im Inkubator bei 37 °C geschüttelt, dann mit 50 µl Stopplösung unterbrochen. Die Platten werden kurz geschüttelt und die Fluoreszenz-Intensität im Platten-Fluoreszenz-Reader bei den Wellenlängen für Exzitation bzw. Emission gemessen.

Die Entstehung des fluoreszierenden Produkts bildet die Basis für die Berechnung. Der Vergleich des Substratumsatzes in An- bzw. Abwesenheit der erfindungsgemäßen Formulierung zeigt eine Hemmung des Cytochrom P450-Isoenzyms an. Aus der konzentrationsabhängigen Hemmung wird der IC₅₀-Wert berechnet.

15

a) Inhibition von rekombinantem, humanem Cytochrom P450 3A4 Isoenzym

| | | |
|----|---|---------------|
| | Inkubationspuffer: KP-Puffer | 200 mM |
| | Enzymgemisch: Glukose-6-Phosphat (G6P) | 0,4 mM |
| 20 | MgCl ₂ | 0,4 mM |
| | NADP+ | 8,1 µM |
| | G6Pdehydrogenase (G6PD) | 0,2 IU/ml |
| | Rekombinantes humanes CYP450-3A4, 1 pMol /Ansatz | |
| | Substrat: 7-Benzoyloxy-trifluoromethylcoumarin (7-BFC) | 50 µM |
| 25 | Pos. Kontrolle: Ketokonazol | 0,25 – 560 nM |
| | Inkubationsdauer: | 30 Minuten |
| | Exzitations-/Emissionswellenlänge: | 410/530 nm |

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 wiedergegeben.

30

-41-

b) Inhibition von rekombinantem, humanem Cytochrom P450 2C9 Isoenzym

| | | |
|----|--|---------------|
| | Inkubationspuffer: KP-Puffer | 50 mM |
| | Enzymgemisch: Glukose-6-Phosphat (G6P) | 0,4 mM |
| 5 | MgCl ₂ | 0,4 mM |
| | NADP ⁺ | 8,1 µM |
| | G6Pdehydrogenase (G6PD) | 0,2 IU/ml |
| | Rekombinantes humanes CYP450-2C9, 1,0 pMol /Ansatz | |
| | Substrat: 7-Methoxy-4-trifluoromethylcoumarin (7-MFC) | 37,5 µM |
| 10 | Pos. Kontrolle: Sulfaphenazol | 0,005 – 10 µM |
| | Inkubationsdauer: | 45 Minuten |
| | Exzitations-/Emmissionswellenlänge: | 410/530 nm |

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 wiedergegeben.

15

c) Inhibition von rekombinantem, humanem Cytochrom P450 2C19 Isoenzym

| | | |
|----|---|----------------|
| | Inkubationspuffer: KP-Puffer | 50 mM |
| | Enzymgemisch: Glukose-6-Phosphat (G6P) | 0,4 mM |
| 20 | MgCl ₂ | 0,4 mM |
| | NADP ⁺ | 8,1 µM |
| | G6Pdehydrogenase (G6PD) | 0,2 IU/ml |
| | Rekombinantes humanes CYP450-2C19, 1,5 pMol /Ansatz | |
| | Substrat: 3-Cyano-7-ethoxycoumarin (CEC) | 25 µM |
| 25 | Pos. Kontrolle: Tranilcypromin | 0,045 – 100 µM |
| | Inkubationsdauer: | 30 Minuten |
| | Exzitations-/Emmissionswellenlänge: | 410/460 nm |

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 wiedergegeben.

30

Beispiel 8:**Test auf Inhibition der P-gp-Transporter; P-gp-Transporter-Test**

Es werden folgende Hilfsstoffe auf Ihre Fähigkeit humane, intestinale P-gp-Transporter zu inhibieren getestet: Cremophor[®]EL, Estax[®]54, Cremophor[®]RH40, raff. Rizinusöl, PEG 400, Imwitor[®]308, Transcutol[®]P, Miglyol[®].

Dafür werden zunächst in eine Mikrotiterplatten (Greiner schwarz 96er Platten, clear bottom, steril) eine Suspension von humanen Brustkrebszelllinien, MATU-Zelllinien (Max-Dellbrück-Centrum (MDC)-Berlin-Buch; 40 000 Zellen / well / 200 µl), gegeben. Um eine stabile und hohe Expression von P-gp zu gewährleisten, werden die Zellen über 3 Tage mit Adriamycin (ADR)-haltigen Medium kultiviert und dann auf ADR-freies Medium umgestellt.

Das Kulturmedium enthält 500 ml RPMI (2,0 g/l NaHCO₃; w/o L-Glutamine, w/o Phenol red, Artikelnr.: F1275, Fa. Biochrom, Berlin), 5 ml PenStrep[®] (10 000 U Penicillin, 10000µg/ml Streptomycin, Artikelnr.: A2213, Fa. Biochrom, Berlin), 5 ml L-Glutamin (200 mM, Artikelnr.: K0283, Fa. Biochrom, Berlin), 50 ml FCS (Artikelnr.: S 0115, Fa. Biochrom, Berlin) und 50 µl Doxorubicin (1 µg/µl).

An Tag 4 werden die Zellen für den Versuch mit Inkubationspuffer gewaschen und anschließend für ca. 10 min in Inkubationspuffer equilibriert. Der Inkubationspuffer, Hepes-Carbonat Puffer, pH 7,2, enthält 128,1mM NaCl, 5,4 mM KCl, 1,0 mM MgSO₄ x 7 H₂O, 1,8 mM CaCl₂ x 2 H₂O, 1,2 mM Na₂HPO₄ x 7 H₂O, 0,4 mM NaH₂PO₄ x H₂O, 15,0 mM Hepes, 20,0 mM Glucose, 4,2 mM NaHCO₃.

Die in 96er-Mikrotiterplatten ausdifferenzierten Zellen werden zunächst 2x mit dem Inkubationspuffer gewaschen. Es wird nun die Mikrotiterplatte in Zonen aufgeteilt. In eine Zone werden 180 µl der jeweiligen Prüflösung pro well zugegeben und die gesamte Mikrotiterplatte wird 30 min bei 37°C vorinkubiert. Die Prüflösungen weisen Konzentrationen von 0,3 bis 33,3 µM der Testsubstanzen auf.

-43-

Eine 33,3 µM konzentrierte Cremophor®EL-Prüflösung wird aus einer 30 mM Stammlösung des Hilfsstoffes in DMSO, die 1:901 mit Inkubationspuffer auf 33,3 µM verdünnt wird und so im Ansatz eine Konzentration von 30 µM ergibt, wobei die Summe der Konzentration an DMSO im Ansatz nicht 0,2% (v/v) überschreitet. Verdünnungen werden analog hergestellt. Prüflösungen für die o.g. Hilfsstoffe werden analog hergestellt.

Anschließend erfolgt die Zugabe der CalceinAM-Arbeitslösung (20 µL/well) in alle wells, d.h. in die mit und ohne Prüflösung. Die Platten werden kurz vorsichtig geschüttelt und weitere 30 min bei 37°C inkubiert. Die CalceinAM-Arbeitslösung wird durch Verdünnen einer 1 mM CalceinAM-Stammlösung in DMSO mit Inkubationspuffer zu 10 µM CalceinAM-Arbeitslösung verdünnt. Nach erfolgter Inkubation wird die Fluoreszenz in einem Platten-Fluoreszenz-Reader (Fluostar®, B&L Systems, Maarssen) bei 485 / 535 nm (Exzitation bzw. Emission) gemessen.

Es wird folgendes Verhältnis Ratio (R) von Fluoreszenzintensität Prüflösung zur Fluoreszenzintensität Blank ermittelt.

Fluoreszenzintensität Prüflösung entspricht der Fluoreszenzintensität, gemessen bei 485 / 535 nm (Exzitation bzw. Emission), der Zellen, die Prüflösung und CalceinAM-Arbeitslösung enthalten.

Fluoreszenzintensität Blank entspricht der Fluoreszenzintensität, gemessen bei 485 / 535 nm (Exzitation bzw. Emission), der Zellen, die keine Prüflösung, jedoch CalceinAM-Arbeitslösung enthalten und somit als 0-Wert dienen.

Die Ergebnisse werden in Tabelle 3 wiedergegeben.

Without further elaboration, it is believed that one skilled in the art can, using the preceding description, utilize the present invention to its fullest extent. The preceding preferred specific embodiments are, therefore, to be construed as merely illustrative, and not limitative of the remainder of the disclosure in any way whatsoever.

In the foregoing and in the examples, all temperatures are set forth uncorrected in degrees Celsius and, all parts and percentages are by weight, unless otherwise indicated.

The entire disclosures of all applications, patents and publications, cited herein and of corresponding U.S. Provisional Application Serial No. 60/416,920, filed October 9, 2002, are incorporated by reference herein.

The preceding examples can be repeated with similar success by substituting the generically or specifically described reactants and/or operating conditions of this invention for those used in the preceding examples.

From the foregoing description, one skilled in the art can easily ascertain the essential characteristics of this invention and, without departing from the spirit and scope thereof, can make various changes and modifications of the invention to adapt it to various usages and conditions.

Patentansprüche:

1. Pharmazeutische Zubereitung, die mindestens einen Emulgator, mindestens einen Hilfsemulgator und/oder Solvent sowie mindestens ein Lipid enthält, dadurch gekennzeichnet, dass das Massenverhältnis von Emulgator zu Hilfsemulgator und/oder Solvent (Smix) 1:1 bis 9:1 und der Gesamtlipidanteil > 0 % (m/m) beträgt, wobei diese Zubereitung mindestens ein intestinales Enzym und/oder mindestens ein intestinales Effluxsystem zumindest teilweise inhibiert.
2. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Smix 3:1 bis 9:1 beträgt.
3. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Smix 9:1 beträgt.
4. Pharmazeutische Zubereitung nach mindestens einem der Ansprüche 1-3, dadurch gekennzeichnet, dass der Gesamtlipidanteil 10-50% (m/v) beträgt.
5. Pharmazeutische Zubereitung nach mindestens einem der Ansprüche 1-4, wobei intestinale Enzyme aus der Gruppe der 17 β -Hydroxy-Steroid-Dehydrogenase oder der Cytochrommonooxygenasen und intestinale Effluxsysteme aus der Gruppe der P-glykoproteine stammen.
6. Pharmazeutische Zubereitung nach mindestens einem der Ansprüche 1-5, dadurch gekennzeichnet, dass der Emulgator PEG-40-hydriertes Rizinusöl (Cremophor[®]RH40), PEG-35-Rizinusöl (Cremophor[®]EL) oder PEG-400-Monorizinoleat (Estax[®]54) enthält.
7. Pharmazeutische Zubereitung nach mindestens einem der Ansprüche 1-6, dadurch gekennzeichnet, dass der Hilfsemulgator und/oder das Solvent Glycerylmonocaprylat > 80% (m/m) (Imwitor[®]308) oder Diethylenglycolmonoethylether (Transcutol[®]P) enthält.
8. Pharmazeutische Zubereitung nach mindestens einem der Ansprüche 1-7, dadurch gekennzeichnet, dass das Lipid Triglyceride, fetten Öle oder Wachse enthält.

9. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Triglycerid Mittelkettige Triglyceride (Miglyol®) enthält.
10. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das fette Öl Rizinusöl, Olivenöl, Maiskeimöl, Sojaöl, Sonnenblumenkernöl, Erdnussöl, Walnussöl oder Diestelöl enthält.
11. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Wachs Ethyloleat oder Isopropylmyristat enthält.
12. Pharmazeutische Zubereitung nach mindestens einem der Ansprüche 1-11, dadurch gekennzeichnet, dass die Zubereitung zusätzlich mindestens einen Arzneistoff enthält.
13. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass der Arzneistoff lipophil und/oder wasserunlöslich oder hydrophil ist.
14. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 12 oder 13, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein Arzneistoff ein Substrat mindestens eines intestinalen Enzyms und/oder eines intestinales Effluxsystems ist.
15. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein intestinales Enzym aus der Gruppe der 17 β -Hydroxy-Steroid-Dehydrogenasen und/oder Cytochrom-Monooxygenasen stammt.
16. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein intestinales Enzym 17 β -HSD 2 ist und/oder aus der Gruppe der Cytochrom P 450 3A- Monooxygenasen stammt.
17. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein intestinales Effluxsystem aus der Gruppe der P-gp-Transporter-Systeme stammt.
18. Pharmazeutische Zubereitung nach einer der Ansprüche 12-17, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein Arzneistoff ein Steroid ist.
19. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass das Steroid in Position 17 des Sterangerüsts eine sekundäre, betaständige Hydroxylgruppe enthält.

20. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 18 oder 19, dadurch gekennzeichnet, dass das Steroid ein Estrogen, ein Antiestrogen oder ein Androgen ist.
21. Pharmazeutische Zubereitung nach mindestens einem der Ansprüche 18-20, dadurch gekennzeichnet, dass das Steroid 11- α -Hydroxynandrolon, 16- α -Fluorestradiol, 16- α -Iodestradiol, 16- β -Fluorestradiol, 2,4-Dibromestradiol, 2-Chlorestradiol, 2-Ethoxyestradiol, 2-Fluorestradiol, 2-Hydroxyestriol, 2-Methoxyestradiol, 2-Methoxyestriol, 2-Methoxymethylestradiol, 3-Methoxyestriol, 4-Bromestradiol, 4-Chlorestradiol, 4-Fluor-17 β -estradiol, 4-Hydroxyestradiol, 4-Hydroxytestosteron, 4-Methoxyestradiol, 5- β -Androstan-17 β -ol-3-on, 6- α -Hydroxyestradiol, 3 α , 17 β -Androstandiol, 3 β , 17 β -Androstandiol, Androstanolon, Androstendiol, Bolandiol, Bolazin, Boldenon, Clostebol, Dacuroniumbromid, 17-Deacetylpancuronium, Dideactetylvecuronium, Vecuronium, 17 β -Dihydroequilin, 5 α -Dihydro-19-nortestosteron, 16 α -Brom-7 α -(N-butyl, N-methyl-undecanamid)-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, 16 α -Chlor-7 α -(N-butyl, N-methyl-undecanamid)-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, 16 α -Iod-7 α -(N-butyl, N-methyl-undecanamid)-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, 16 α -Brom-7 α -(N-butyl, N-methyl-undecanamid)-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, Epiestriol, Epitiostanol, Estetrol, Estradiol, Estradiol-3-glucuronid, Estradiol-3-methylether, Estradiol-3-sulfat, Estradiol-3-bezoat, Estradiol-3-hexahydrobenzoat, Estramustin, Estriol, Estriol-3-glucuronid, Estriol-3-sulfat, Estriol-16-glucuronid, Estrynamin, 17 β -Hydroxy-6-methylen-androsta-1,4-dien-3-on, Fulvestrant, 1-Hydroxy-17 β -estradiol, 2-Hydroxy-17 β -estradiol, 4-Hydroxy-17 β -estradiol, 6-Hydroxy-17 β -estradiol, 7-Hydroxy-17 β -estradiol, 15-Hydroxy-17 β -estradiol, 18-Hydroxy-17 β -estradiol, 7-(N-butyl-undecanamid)-3,17 β -estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, 7 α -(N-butyl-undecanamid)-3,17 β -estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, Estra-1,3,5(10)-trien-7 β -(N-butyl)undecanamid-3,17 β -diol, 7 α -(N-butyl, N-methyl-undecanamid)-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, Inocoteron, Estra-3-sulfamate-1,3,5(10),7-tetraen-3,17 β -diol, Cycloprop[14S,15 β]-3',15-dihydro-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, Estra-1,3,5(10)-trien-3-sulfamat-17 β -ol, Mesterolone, Methenolon, 16-

-47-

Methylenestradiol, Metogest, Nandrolon, Nisterim, Norclostebol, 3-Octyloxy-5 α -androst-3-en-17 β -ol, Estradiol-17-phenylpropionat-Estradiolbenzoat mixt., 7-Ethyl-nandrolon, 11 β -Chlormethyl-estra-3, 17 β -diol, Piperidinium-1-[(2 β ,3 α ,5 α ,16 β ,17 β)-3,17-dihydroxy-2-(1-
 5 piperidiny]androst-16-yl]-1-methyl-bromid, 17-Desacetylrocuronium, Oxendolon, 11 α -Methoxy-7 α -methyl-estra-3-17 β -diol, Quinestradiol, 17 β -Hydroxy-7 α -methyl-androst-5-en-3-one, 11 α -ethenyl-estra-3, 17 β -diol, 11 β -[4(dimethylamino)phenyl]-estra-3, 17 β -diol, 7 α -{4-[2-(dimethylamino)ethoxy]phenyl}-estra-3,17 β -diol, 11 β -{4-
 10 [(methylsulfonyl)oxy]phenyl}-estra-3,17 β -diol, 11 β -{4-[[5-[(4,4,5,5,5-pentafluoropentyl)sulfonyl]pentyl]oxy]phenyl}-estra-3,17 β -diol, 17 β -Dihydroxy-9 α -fluor-11 β -androst-1,4-dien-3-on, Stenbolon, Cycloprop[14R,15 α]estra-3',15-dihydro-3-methoxy-1,3,5(10)-trien-17 β -ol, Cycloprop[14S,15 β]estra-3',15-dihydro-3-methoxy-1,3,5(10)-trien-17 β -ol,
 15 Testosteron, Trestolon, Trilostan, 13 β -Ethyl-8 α -gon-1,3,5(10)-trien-3,16 α ,17 β -triol, 13 β -Ethyl-8 β -gon-1,3,5(10)-trien-3,16 α ,17 β -triol, Estra-2-{tricyclo[3.3.1.1^{3,7}]decyl}-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, Ent-estradiol, 8 β -Vinyl-estradiol, 11 β -Fluor-7 α -{5-[N-methyl-N-3-(4,4,5,5,5-pentafluoropentylthio)-propylamino]-pentyl}-estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol
 20 , 11 β -Fluoro-7 α -{5-[methyl-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluorodecyl)amino]pentyl}estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, 11 β -Fluoro-17 α -methyl-7 α -{5-[methyl-(8,8,9,9,9-pentafluornonyl)amino]pentyl}estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol, 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-androst-4-en-3-on , 17 β -Hydroxy-7 α -Methyl-14 α ,15 α -methylen-androst-4-en-3-on, 4-Chlor-17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-androst-4-en-3-on, 4,17 β -Dihydroxy-14 α ,15 α -methylen-androst-4-en-3-on, 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-androsta-1,4-dien-3-on, 4-Chlor-17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-androsta-1,4-dien-3-on, 4-Chlor-17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-estr-4-en-3-on, 7 β -Hydroxy-7 α -
 30 Methyl-14 α ,15 α -methylen-estr-4-en-3-on, 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-estr-4-en-3-on, 4,17 β -Dihydroxy-14 α ,15 α -methylen-estr-4-en-3-on, 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -methylen-estra-4,9,11-trien-3-on, 3-Ethyl-17 β -hydroxy-14 α ,15 α -methylen -gon-4-en-3-on, 17 α - β -Hydroxy-17 α -

-48-

homoandrosta-4,15-dien-3-on, 1''-Mesityl-17 α -(trifluormethyl)-1'H-pyrazol[4'',5':2,3]androst-4-en-17 β -ol.

22. Verwendung einer pharmazeutischen Zubereitung nach mindestens einem der Ansprüche 1-21 zur Herstellung eines peroralen Arzneimittels zur Inhibierung mindestens eines intestinales Enzyms und/oder mindestens eines intestinales Effluxsystems.
23. Verwendung einer pharmazeutischen Zubereitung nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein intestinales Enzym aus der Gruppe der 17 β -Hydroxy-Steroid-Dehydrogenasen und/oder Cytochrom-P450-Monooxygenasen stammt.
24. Verwendung einer pharmazeutischen Zubereitung nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein intestinales Enzym 17 β -HSD 2 ist und/oder aus der Gruppe der Cytochrom-P450-3A-Monooxygenasen stammt.
25. Verwendung einer pharmazeutischen Zubereitung nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein intestinales Effluxsystem ein P-gp-Transporter ist.
26. Verwendung einer pharmazeutischen Zubereitung nach mindestens einem der Ansprüche 22-25, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel aus der Gruppe der Therapeutika, Prophylaktika oder Diagnostika kommt.
27. Verfahren zur Erhöhung der Bioverfügbarkeit von peroral zu applizierenden Arzneistoffen, dadurch gekennzeichnet, dass eine pharmazeutische Zubereitung nach mindestens einem der Ansprüche 1-21 einen Arzneistoff enthält und peroral appliziert wird.

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft pharmazeutische Zubereitungen enthaltend mindestens einen Emulgator, mindestens einen Hilfsemulgator und/oder Solvent sowie mindestens ein Lipid, dadurch gekennzeichnet, dass das Massenverhältnis von Emulgator zu Hilfsemulgator und/oder Solvent (Smix) 1:1 bis 9:1 und der Gesamtlipidanteil > 0 % (m/m) beträgt, wobei diese Zubereitung mindestens ein intestinales Enzym und/oder mindestens ein intestinales Effluxsystem zumindest teilweise inhibiert. Diese Zubereitungen können verwendet werden, um die Bioverfügbarkeiten von Arzneistoffen, die lipophil und/oder Substrate von intestinalen metabolisierenden Enzymen und/oder intestinalen Effluxsystemen sind, insbesondere Steroide zu erhöhen.